



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

ESTUDO DO PH DA PELE EM CÃES SAUDÁVEIS E CÃES COM INSUFICIÊNCIA RENAL
CRÓNICA.

DIANA RAQUEL MARTINS DA SILVA FERREIRA

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutor António José de Freitas Duarte

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma

Dra. Ana Mafalda Lourenço Martins

ORIENTADOR

Doutor José Henrique Duarte Correia

CO-ORIENTADOR

Dra. Ana Mafalda Lourenço Martins

2010

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

ESTUDO DO PH DA PELE EM CÃES SAUDÁVEIS E CÃES COM INSUFICIÊNCIA RENAL
CRÓNICA.

DIANA RAQUEL MARTINS DA SILVA FERREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutor António José de Freitas Duarte

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutor Mário Alexandre Gonçalves Quaresma

Dra. Ana Mafalda Lourenço Martins

ORIENTADOR

Doutor José Henrique Duarte Correia

CO-ORIENTADOR

Dra. Ana Mafalda Lourenço Martins

2010

LISBOA

*À minha Mãe,
Porque é a ti que devo o que hoje sou.*

*Aos meus bichos,
Dusty, Cosette, Lua, Malik e Fusca.
De repente perceber que nenhum amor se iguala àquele, que nenhuma dor é tão profunda
como a da perda daquilo que ajudámos a construir...*

*“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si,
levam um pouco de nós”
(Antoine de Saint-Exupéry)*

É aos que deixaram um pouco deles em mim que dedico este trabalho que não é mais do que o culminar de uma história construída de amizades profundas, de amores eternos, de aprendizagens cravadas, de respeitos e admirações especiais.

À Dra. Ana Mafalda Lourenço Martins, pelas excelentes horas de conhecimento que nos proporcionou, por todas as oportunidades que garantiu que tivéssemos acesso, pela exigência e pelo rigor que nos impôs. É isso que nos faz crescer.

Ao Prof. Dr. José Henrique Duarte Correia por ter aceite este desafio. Foi com admiração que sempre me permiti beber do seu conhecimento.

A todos os criadores, donos e colegas, que muito gentilmente me permitiram colher os dados de pH dos seus animais. Foram vocês que tornaram este trabalho possível.

Ao Rodolfo Leal, pela amizade acima de tudo, pelo acesso ao teu conhecimento, pela confiança que depositaste em mim desde o meu primeiro dia de estágio, por todas as horas de riso, pelas lágrimas que partilhámos, pelos momentos que só contigo poderia ter tido. Muito do que aprendi, foi porque soubeste exigir de mim nada menos do que exigirias de ti. Muito obrigada por teres tornado este estágio inesquecível.

Ao Dr. Nuno Félix. Há empatias que não se explicam. Obrigada por me ter deixado fazer parte do que é. É infundo o meu respeito, a minha admiração, a minha gratidão pelo imenso conhecimento de que me deixou beber, o carinho com que todos os dias fui, sou e sei que serei recebida. Muito obrigada por me deixar levar comigo um pouco de si.

Ao Gonçalo Vicente, por teres sido sempre tão motivador, pelo conhecimento que proporcionaste, pela amizade.

Ao Ricardo Marques, Cristina Almeida, Alexandra Basso, Óscar Gamboa, Ana Murta, Marisa Ferreira, Rodrigo Bom, Joana Pontes. Alguma empatia enriquece sempre. Porque se torna tudo tão mais fácil. O tempo passa a trabalhar a nosso favor. Obrigada por todo o conhecimento.

Ao Pedro Lourenço, Carla Silva, Luís Silva, Carla Pardal e Filipa Fernandes. São vocês, um pouco, os impulsionadores do que nos tornamos. O incentivo, o ensinar a acreditarmos em nós próprios. Obrigada pelo imenso apoio que todos os dias me deram.

À Diana Nóbrega, por ter sido a minha companheira de todo o curso e por ter tido a paciência de me aturar. Sei que por vezes nos deixámos levar pelos humores, mas a realidade é que me apoiaste sempre muito e estarei sempre grata por teres caminhado comigo.

À Sandra Subtil, Carla Almeida, Joana Leite, Rui Vidal, Tânia Horta, Ana Mota, Fernando Lebre e Joana Ramos. Esta caminhada, partilhamo-la de forma tão intensa. Obrigada por

terem sido presentes, por terem contribuído para o meu crescimento, pelos momentos que só nós soubemos o que foram. Hoje sei que estão entranhados em mim. Hoje sei que seremos para sempre.

Ao Nuno Leitão, Marta Barros, Patrícia Navega e Pedro Bule. Os meus companheiros de estágio de risos, de dores, de trapalhices. Não esqueço nada. Está tudo guardado naquele lugar especial.

À minha mãe, Aida Ferreira, por seres o meu pilar, o meu tecto, o meu chão. Por acreditares, por impulsionares, por te orgulhares. Tudo o que sou é para ti.

À minha irmã Betânia, por toda a ajuda que deste na colheita dos dados de pH, e na elaboração deste trabalho. Ele é também um pouco teu.

A ti Cajó, pelos intermináveis anos de incentivo, de acompanhamento, de suporte.

RESUMO

Estudo do pH da pele em cães saudáveis e cães com insuficiência renal crónica.

A natureza ácida da pele foi reconhecida há mais de um século. O pH ácido da superfície cutânea dos mamíferos desempenha várias funções de grande importância na manutenção da barreira epidérmica. Tem um papel fundamental na defesa antimicrobiana da epiderme, é indispensável para a homeostase da permeabilidade da barreira epidérmica e mantém a integridade/coesão do estrato córneo.

No homem, sabe-se que elevações no pH do estrato córneo afectam as funções cutâneas podendo desencadear determinadas situações clínicas. Muitas das doenças dermatológicas em seres humanos, incluindo dermatite atópica e dermatite seborreica, estão associadas a um aumento do pH do estrato córneo. Este aumento do pH afecta por consequência a manutenção da barreira epidérmica e a integridade/coesão do estrato córneo. Ligeiras alterações no pH da pele podem resultar em manifestações clínicas mais graves ou prolongadas ou até mesmo dermatoses ocupacionais resistentes. O conhecimento do pH de pele dos canídeos é importante na medida em que nos permitirá realizar escolhas a nível de agentes acidificantes tópicos mais bem fundamentadas, possibilitando um aumento da eficácia terapêutica, bem como um ajuste mais específico das terapêuticas tópicas perante a diferenciação do pH cutâneo de diferentes raças.

Como objectivo, pretendemos conhecer os valores de pH fisiológicos da pele das raças de canídeos mais comuns em Portugal, bem como detectar possíveis alterações que possam ocorrer no pH da pele de animais com Insuficiência Renal Crónica.

Foi-nos possível observar diferenças significativas entre raças, reforçando a importância do conhecimento do pH de pele aquando da realização de terapêuticas adjuvantes acidificantes. Foi-nos também possível detectar desvios dos intervalos considerados como normais dos valores de pH da pele dos animais com Insuficiência Renal Crónica. O presente estudo indicou um pH de pele destes animais menor que o pH de pele médio dos controlos podendo este resultado estar relacionado com uma sudação alterada decorrente do estado patológico.

Palavras-chave: pH de pele, pH ácido, antimicrobiano, permeabilidade da barreira, integridade/coesão, Insuficiência Renal Crónica.

ABSTRACT

Study of the skin pH in healthy dogs and dogs with Chronic Renal Failure.

The acidic nature of the skin has been recognized for more than a century. The acidic pH of the skin surface of mammals plays several important roles in maintaining the epidermal barrier. It is important in the epidermis antimicrobial protection, is indispensable for the homeostasis of epidermal barrier permeability and maintains integrity/cohesion of the stratum corneum.

It is known that elevations in pH of the human stratum corneum affect cutaneous functions and may trigger certain clinical situations. Many human dermatologic diseases, including atopic dermatitis and seborreic dermatitis, are associated with an increase of the pH of the stratum corneum. An alkaline pH affects consequently the maintenance of the epidermal barrier and the integrity/cohesion of the stratum corneum. Slight changes in pH of the skin can result in more severe or prolonged clinical signs or even resistant occupational dermatoses. Knowledge of the canine pH of the skin is important as it will allow us to make choices of acidifying topical agents more well-founded, enabling an increased therapeutic efficiency, as well as a more specific adjustment of topical therapeutics before skin pH differentiation of different breeds.

Our aim is to know the physiological pH values of the skin of the most common breeds of dogs in Portugal, as well as detect potential changes occurring in the skin pH of animals with Chronic Renal Failure.

We were able to observe significant differences between breeds, reinforcing the importance of the knowledge of the pH of the skin when carrying out acidifying adjuvant therapeutics. We were also able to detect deviations from normal ranges of the pH of the skin of animals with Chronic Renal Failure. This study indicated a skin pH of these animals more acidic than the average skin pH of the control group. This result may be related to an altered sweating occurring in this pathological condition.

Keywords: skin pH, acidic pH, antimicrobial, permeability barrier, integrity/cohesion, Chronic Renal Failure.

ÍNDICES

ÍNDICE GERAL

Dedicatória	i
Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vi
Índices	vii
Actividades Desenvolvidas No Estágio Curricular	xii
 INTRODUÇÃO	 1
 PARTE I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: O PH DE PELE	
1. A ORIGEM DO pH	4
2. MEDIÇÃO DO pH DA PELE	5
2.1. A evolução dos métodos utilizados na medição do pH da pele	5
2.2. Eléctrodos de vidro	6
2.3. Procedimentos práticos de medição de pH da pele	7
3. O pH DA PELE NA FISIOLÓGIA CUTÂNEA	9
3.1. As funções do pH da pele	9
3.1.1. Função antimicrobiana do pH	9
3.1.2. Manutenção da microbiota cutânea	10
3.1.3. Queratinização e descamação	10
3.2. Gradiente de pH	10
3.3. Composição do estrato córneo	11
3.4. Acidificação do estrato córneo	15
3.4.1. Sudação nos carnívoros	15
3.4.2. Sistemas responsáveis pela capacidade tampão da superfície da pele	16
3.5. O pH das mucosas	18
4. A IMPORTÂNCIA DO PH DO ESTRATO Córneo PARA A HOMEOSTASE DA PERMEABILIDADE DA BARREIRA - CONTROLO ENZIMÁTICO	19
4.1. Restabelecimento da barreira dependente de pH	20
4.2. Efeitos da neutralização do estrato córneo	21
4.3. Consequências de um pH aumentado na integridade e coesão do estrato córneo	22
5. O pH FISIOLÓGICO DA PELE	24
5.1. Homem	24
5.2. Canídeos	24
6. FACTORES QUE INFLUENCIAM O pH DA PELE	27
6.1. Idade	27
6.1.1. O pH da pele de canídeos de diferentes idades	28
6.1.2. O pH da pele de bebés humanos	28
6.2. Raça	29
6.3. Regiões anatómicas	30
6.4. Género	30
6.5. Ritmo circadiano	31
6.6. Época do ano	32
6.7. Humidade da pele, suor e secreções sebáceas	32
6.8. Pigmentação da pele	33
6.9. Hábitos de limpeza de pele	33
6.10. Pensos oclusivos	33
6.11. Métodos utilizados para as medições de pH	34
7. pH DA PELE E MICROBIOTA CUTÂNEA	35
7.1. A microbiota cutânea	35

7.2. Microrganismos residentes, temporários e transitórios da pele	36
7.3. O papel protector do pH ácido da pele	37
7.4. Efeitos do pH no crescimento de <i>Malassezia pachydermatis</i> de origem canina ..	37
7.5. Efeito de produtos na microbiota e pH da pele	38
8. O pH DA PELE NAS DOENÇAS	40
8.1. Doenças sistémicas	40
8.2. Doenças dermatológicas	41
8.2.1. Dermatite atópica no Homem	41
8.2.2. Infecções fúngicas em determinadas populações de pacientes	45
8.2.3. Infecções bacterianas em determinadas populações de pacientes	46
9. INFLUÊNCIA DE PRODUTOS TÓPICOS NO pH DA PELE E SUAS CONSEQUÊNCIAS	47
CONCLUSÃO	51

PARTE II - ESTUDO DO PH DA PELE EM CÃES SAUDÁVEIS E CÃES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÓNICA

OBJECTIVOS	54
MATERIAIS E MÉTODOS	54
Animais	54
Regiões anatómicas e protocolo	56
Equipamento de medição	56
Métodos estatísticos	56
RESULTADOS	56
Canídeos adultos	56
O pH e a idade	56
O pH e o género	56
O pH e as regiões anatómicas	59
O pH e a pigmentação da pele	60
O pH e a raça	61
Canídeos jovens	62
O pH e a idade	62
O pH e o género	63
O pH e as regiões anatómicas	64
O pH e a pigmentação da pele	65
O pH e a raça	67
Canídeos Insuficientes Renais Crónicos (IRC)	67
DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	68
Canídeos adultos	68
Canídeos jovens	70
Canídeos Insuficientes renais crónicos	73
BIBLIOGRAFIA	77

PARTE III - ANEXOS

Anexo I – Resumo da comunicação oral apresentada no 19º Congresso Nacional da APMVEAC 2010	82
Anexo II - Resumo do poster e comunicação oral apresentada no 24º Congresso Anual ECVD-ESVD, Florença, Itália, 2010	83
Anexo III - Poster apresentado no 24º Congresso Anual ECVD-ESVD, Florença, Itália, 2010	84
Anexo IV – Poster apresentado no VI Congresso Hospital Veterinário Montenegro 2010	85
Anexo V – Folha elaborada para registo de cateteres incluídos no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais internados	86
Anexo VI – Pedido de colaboração e procedimentos de colocação de cateteres para inclusão no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais internados ...	86
Anexo VII – Aviso de cateter em estudo a colocar nas jaulas dos animais internados participantes no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais	

internados	87
Anexo VII – Folha de laboratório utilizada no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais internados	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática do funcionamento da membrana de vidro (adaptado de Schmid-Wendtner & Korting, 2007)	7
Figura 2: Gradiente bifásico de pH nas diferentes camadas do estrato córneo e estrato granuloso (adaptado de Fluhr & Elias, 2002)	11
Figura 3: Localização de várias funções protectoras no estrato córneo (adaptado de Lee, Jeonh, & Ahn, 2006)	12
Figura 4: Fotografia electrónica de varrimento de estrato córneo congelado hidratado canino, mostrando o arranjo compacto em camadas das escamas (Reproduzida do BSAVA Manual of Small Animal Dermatology, 2ª edição, editado por Aiden Foster e Carol Foil, com a permissão da BSAVA Publications. © BSAVA)	12
Figura 5: A secreção dos corpos lamelares dita a localização de múltiplas funções ao compartimento extracelular (adaptado de Elias, 2005)	13
Figura 6: Efeito do pH nas membranas da fracção de ceramidas e colesterol extraídas dos lípidos de estrato córneo humano (HSC(Cer/Chol))/ácidos gordos livres (AGL) (utilização de imagem autorizada pelos autores Plasencia, Norlén, & Bagatolli, 2007) ...	14
Figura 7: Os factores endógenos e exógenos que afectam a acidificação do estrato córneo (adaptado de Lee, Jeonh, & Ahn, 2006)	15
Figura 8: Funções potencialmente afectadas pelo metabolismo da filagrina no estrato córneo (adaptado de Elias, 2005)	16
Figura 9: Consequências estruturais e funcionais da acidificação do estrato córneo (adaptado de Fluhr & Elias, 2002)	17
Figura 10: Distribuição de lípidos dos corpos de lamelares na interface estrato córneo - estrato granuloso, ocorrendo subsequentemente fusão dos lípidos distribuídos em bicamadas lamelares no estrato córneo superior (utilização de imagem autorizada pelos autores Fluhr & Elias, 2002)	20
Figura 11: Métodos para um aumento experimental do pH do estrato córneo e suas consequências mecânicas (adaptado de Hachem, Crumrine, Fluhr, Brown, Feingold, & Elias, 2003)	21
Figura 12: Papel, pH-dependente, proposto para as diferentes proteases de descamação na pele normal e dermatítica (adaptado de Elias, 2005)	22
Figura 13: pH da pele, regional, de cães de raça Beagle (utilização de imagem autorizada pelos autores Oh & Oh, 2009)	26
Figura 14: Amostra incluída nos diferentes estudos de pH de pele em cães	54
Figura 15: Raças de animais adultos incluídas no presente estudo	55
Figura 16: Raças de animais jovens incluídas no presente estudo	55
Figura 17: Raças de animais com IRC incluídas no estudo	55
Figura 18: Regiões anatómicas em que foram efectuadas as medições de pH de pele (focinho, face interna do pavilhão auricular, região interdigital dorsal e ventral, axila, região inguinal e região do flanco)	56
Figura 19: Variação das idades dos animais adultos incluídos no presente estudo	57
Figura 20: pH médio da pele de animais adultos mais novos (com 1 a 3 anos) e mais velhos (dos 4 aos 14 anos)	58
Figura 21: Valores de pH: machos <i>versus</i> fêmeas	59
Figura 22: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos	59
Figura 23: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos com pele pigmentada e com pele ausente de pigmento	60
Figura 24: Valores de pH nas diferentes raças dos animais adultos	61
Figura 25: Variação das idades dos animais jovens	62

Figura 26: pH médio da pele de cachorros mais novos (com 1 e 2 meses) e mais velhos (dos 3 aos 11 meses)	63
Figura 27: Valores de pH: Machos <i>versus</i> fêmeas	64
Figura 28: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos	67
Figura 29: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais jovens com pele com ausência de pigmento e pele pigmentada	67
Figura 30: Valores de pH nas diferentes raças dos animais jovens	67
Figura 31: Variação das idades dos animais IRC	68
Figura 32: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais IRC	69
Figura 33: Valores de pH: adultos <i>versus</i> cachorros	71
Figura 34: Valores de pH para os 4 grupos de idades analisados: cachorros mais novos (1 e 2 meses de idade), cachorros mais velhos (dos 3 aos 11 meses de idade), adultos mais novos (entre 1 e 3 anos) e adultos mais velhos (dos 4 aos 14 anos)	72
Figura 35: Valores de pH dos diferentes grupos de animais estudados	74
Figura 36: Valores de pH: adultos <i>versus</i> Insuficientes Renais	74

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Descrição detalhada do número de horas de estágio no Hospital Escolar da FMV-UTL	xii
Tabela 2: Actividades da pele associadas à homeostasia (adaptado de Foster & Foil, 2007)	2
Tabela 3: Conceito alargado das componentes e funções do “manto ácido” da pele (adaptado de Rippke, Schreiner, & Schwanitz, 2002)	9
Tabela 4: Valores médios de pH de pele descritos para várias espécies de mamíferos (adaptado de Matousek & Campbell, 2002)	24
Tabela 5: Factores que no Homem afectam o pH da pele (adaptado de Yosipovitch & Maibach, 1996)	25
Tabela 6: Efeitos do pH na microbiota da pele (adaptado de Ansari, 2009)	37
Tabela 7: Revisão dos estudos importantes realizados em pacientes humanos com dermatite atópica que focaram a avaliação do pH de pele (adaptado de Schmid-Wendtner & Korting, 2007)	42
Tabela 8: Factores possivelmente envolvidos nas alterações do pH da pele atópica (adaptado de Rippke, Schreiner, Doering, & Maibach, 2004)	43
Tabela 9: pH médio dos canídeos adultos	56
Tabela 10: Testes t de Student para amostras independentes	57
Tabela 11: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nos animais mais novos (1 a 3 anos) e mais velhos (4 a 14 anos)	57
Tabela 12: Testes t de Student para amostras independentes, , referentes à relação entre o pH e o género	58
Tabela 13: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nas fêmeas e machos	58
Tabela 14: Estatísticas descritivas referentes ao pH das diferentes regiões anatómicas dos animais adultos	59
Tabela 15: Testes de Within-Subjects Effects referentes aos valores de pH das várias regiões anatómicas nos animais adultos	60
Tabela 16: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e a pigmentação da pele	60
Tabela 17: Estatísticas descritivas referentes ao pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos com pele pigmentada e com pele ausente de pigmento	61
Tabela 18: Valores de pH e significância das várias raças de adultos incluídas no presente estudo	62
Tabela 19: pH médio dos canídeos jovens	62
Tabela 20: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e a idade	63
Tabela 21: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nos	63

animais mais novos (1 e 2 meses) e mais velhos (3 a 11 meses).	
Tabela 22: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e o género nos animais jovens	64
Tabela 23: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nas fêmeas e machos jovens	64
Tabela 24: Estatísticas descritivas, referentes ao pH das diferentes regiões anatómicas dos animais jovens	65
Tabela 25: Testes de Within-Subjects Effects referentes aos valores de pH das várias regiões anatómicas nos cachorros	65
Tabela 26: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e a pigmentação da pele dos animais jovens	66
Tabela 27: Estatísticas descritivas referentes aos valores pH das várias regiões anatómicas dos cachorros com pele com ausência de pigmento e pele pigmentada	66
Tabela 28: Valores de pH e significância das várias raças de cachorros incluídas no estudo	68
Tabela 29: pH médio dos canídeos com insuficiência renal crónica	68
Tabela 30: Testes de Within-Subjects Effects referentes aos valores de pH das várias regiões anatómicas nos IRC	69
Tabela 31: Testes t de Student para amostras independentes, referentes ao pH das diferentes regiões anatómicas dos canídeos com insuficiência renal crónica	69
Tabela 32: Médias de pH de pele de canídeos obtidas pelos vários autores	70
Tabela 33: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH da pele de cachorros e animais adultos	71
Tabela 34: Estatísticas descritivas referentes aos valores pH das várias regiões anatómicas dos cachorros e dos adultos	71
Tabela 35: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH de animais adultos e com insuficiência renal crónica	75
Tabela 36: Estatísticas descritivas referentes aos valores pH das várias regiões anatómicas dos adultos e canídeos com IRC	75

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AGL: Ácidos gordos livres
 DiIC18: Dioctadecil-3,3,3'-tetrametilindocarbocianina
 DMNID: Diabetes mellitus não insulino-dependente
 DP: Desvio padrão
 EEMCO: Grupo Europeu de Eficácia de Medição de Cosméticos e Outros Produtos Tópicos
 FHN: Factor de hidratação natural
 FLA₂: Fosfolipase A₂
 GL: Gluconolactona
 HSC(Cer/Chol): Fracção de ceramidas e colesterol
 IRX: Ictiose recessiva ligada ao cromossoma X
 IRC: Insuficiência Renal crónica
 LBA: Ácido lactobiónico
 LXR: Receptor X do fígado
 NHE1: Transportador de ião hidrogénio específico
 Ox-AD: Dermate Atópica induzida por oxazolona
 PATE: Perda de água transepidermica
 PHA: Poli-hidróxi-ácidos
 PPAR: Receptor activado por proliferadores de peroxissoma
 SCCE: Enzima quimotriptica do estrato córneo específica da epiderme
 SCTE: Serina protease triptica do estrato córneo
 sFLA₂: Fosfolipase secretora A₂
 SRIS: Síndrome de resposta inflamatória sistémica
 TAC: Tomografia axial computadorizada.
 UV: Ultravioleta

ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS NO ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular que serviu de base para esta monografia e estudo foi realizado na área de Medicina e Cirurgia de Animais de Companhia no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa – FMV-UTL, tendo tido uma duração de 1290 horas. O estágio foi realizado entre os dias 15 de Setembro de 2009 e 3 de Abril de 2010.

O hospital escolar da FMV-UTL encontra-se subdividido nas áreas de Cirurgia, Consultas Externas (Medicina), Imagiologia e Internamento. Exceptuando a área de internamento, com funcionamento de 24 horas, o serviço de imagiologia, bem como as consultas externas decorrem de 2^a a 6^a feira entre as 9 e as 21 horas. O serviço de cirurgia, por sua vez, funciona preferencialmente no período da manhã.

A carga horária era de 8 horas diárias em turnos rotativos, num total de 40 horas semanais. Os turnos incluíam também fins-de-semana, bem como turnos de 24 horas que abrangiam ocasionalmente o serviço de internamento.

Tendo em conta o interesse pessoal na especialidade médico-veterinária dermatológica, o estágio no hospital escolar da FMV-UTL, decorrendo num total de 1290 horas, compreendeu rotação pelos serviços de dermatologia, consultas externas, imagiologia, internamento e cirurgia (Tabela 1).

Tabela 1: Descrição detalhada do número de horas de estágio no Hospital Escolar da FMV-UTL.

Serviço	Total de horas por serviço
Dermatologia	250
Consulta Externa	448
Internamento	192
Imagiologia	80
Cirurgia	320
Total	1290

Todas as actividades desenvolvidas foram supervisionadas pelos médicos veterinários dos respectivos serviços.

Consultas de Dermatologia

As consultas de dermatologia funcionam todas as 2^{as}-feiras, das 9 às 17 horas. Neste serviço, as funções do aluno estagiário incluíam a realização da anamnese e história pregressa, bem como o exame clínico do animal. O aluno estagiário apresentava então o caso clínico ao médico veterinário responsável, o qual reavaliava os animais em questão.

Numa segunda fase, o estagiário auxiliava o médico veterinário na realização de exames complementares, na discussão de planos de diagnóstico, tratamento e outras decisões clínicas.

Na realização de exames complementares o aluno estagiário auxiliava nas colheitas de sangue, raspagens, tricogramas, colheitas de pêlo, citologias e respectivas colorações, observações à lâmpada de Wood, biopsias e vídeo-otoscopias. Eram feitas também análises microscópicas dos materiais de colheita, sendo os achados posteriormente discutidos com o médico veterinário responsável. O aluno estagiário auxiliava o médico veterinário responsável em todo o acompanhamento posterior do paciente.

Semanalmente, eram realizados debates com o médico veterinário responsável pela consulta de dermatologia, de casos clínicos e temas relacionados com a área em questão. Para além disso, pudemos participar em várias formações desenvolvidas com o intuito de enriquecer o nosso conhecimento na área de dermatologia.

Já este ano, apresentámos uma comunicação oral no 19º Congresso Nacional da APMVEAC, Lisboa, com o título “pH da pele em cães jovens e adultos saudáveis: resultados preliminares de 143 animais” (Anexo I) e tive oportunidade de ser co-autora no estudo realizado na FMV-UTL, exposto em poster e como comunicação oral no 24º Congresso Anual ECVD-ESVD, Florença, Itália, com o título “Prevalence of conjunctivitis in dogs with atopic dermatitis (N=64): a dermatology and ophthalmology service perspective” (Anexo II e III).

Consultas Externas

Neste serviço, as funções do aluno estagiário incluíam a realização da anamnese e história pregressa, bem como o exame clínico do animal. O aluno estagiário apresentava então o caso clínico ao médico veterinário responsável, o qual reavaliava os animais em questão. Numa segunda fase, o estagiário auxiliava o médico veterinário na realização de exames complementares, na discussão de planos de diagnóstico, tratamento e outras decisões clínicas. Neste âmbito, destacavam-se a contenção, as colheitas de sangue, o acompanhamento de ecografias abdominais, ecocardiografias, radiografias e tomografias axiais computadorizadas (TAC), a preparação e a administração de fármacos, a discussão de planos de vacinação e desparasitação entre outros.

No âmbito dos casos clínicos acompanhados em medicina interna tivemos a oportunidade de apresentar um poster no VI Congresso Hospital Veterinário Montenegro, sob o tema de Emergências Veterinárias, com o título “Ruptura de Vesícula Biliar em Canídeo: uma urgência rara”, o qual ganhou o prémio de melhor poster (Anexo IV).

A convite do Dr. Nuno Félix, tive oportunidade de integrar, juntamente com o Dr. Ricardo Marques, a elaboração de um estudo de contaminação bacteriana de cateteres endovenosos em animais internados. Este estudo consistia na colocação diária de cateteres

com prévia assepsia realizada com clorhexidina em animais destinados a um período de internamento superior a 24 horas. Procedeu-se ao cultivo de 40 cateteres durante um período de 5 meses, tendo-se obtido desenvolvimento bacteriano em 12. Nestes, foram isolados e identificados os seus agentes contaminantes tendo sido feito um posterior teste de sensibilidade a antibióticos (Anexo V, VI, VII e VIII). O estudo aguarda ao momento tratamento e análise de dados.

Internamento

Nos turnos de 24 horas o aluno estagiário tinha sob responsabilidade os animais que se encontravam hospitalizados.

Durante cada turno, o aluno estagiário cumpria as medicações prescritas para cada animal, monitorizava parâmetros clínicos e garantia cuidados de higiene e bem-estar, gerindo a alimentação e passeios. Era também garantido o acompanhamento pós-cirúrgico do animal e o seguimento dos animais na realização de exames complementares.

Imagiologia

A rotação pelo serviço de imagiologia compreendeu um período total de 2 semanas. Como estagiário, o aluno participou no posicionamento dos animais, no auxílio do médico veterinário responsável na indução e manutenção anestésica bem como em todo o acompanhamento durante e após anestesia, e na análise radiográfica auxiliada pelo médico veterinário do serviço. Paralelamente, auxiliava ainda na realização e interpretação de outras técnicas de imagiologia nomeadamente ecografias (abdominais e ecocardiografias), tomografias axiais computadorizadas, mielografias e vídeo-otoscopias.

Serviço de Cirurgia

A rotação pelo serviço de cirurgia compreendeu um período total de 8 semanas. O aluno estagiário auxiliava na recepção dos animais para cirurgia, na preparação cirúrgica, na indução anestésica, entubação, monitorização e desempenhava funções de anestesista, circulante ou ajudante de cirurgião em cirurgias de tecidos moles e ortopedia bem como o acompanhamento a nível hospitalar dos animais internados. No período de consultas de assistência pós-cirúrgica, o aluno estagiário auxiliava no tratamento de feridas cirúrgicas, e respectivos pensos. Foi-nos possível também participar em várias formações práticas desenvolvidas com o intuito de enriquecer o conhecimento e as técnicas dos alunos estagiários na cirurgia.

INTRODUÇÃO

A natureza ácida da pele foi descoberta por Heuss em 1892, tendo sido mais tarde validada por Schade e Marchonini em 1928, que classificaram a acidez da pele como uma característica protectora, apelidando-a de “manto ácido” (Ansari, 2009). O chamado manto ácido da superfície cutânea, originalmente interpretado como uma interdependência entre a acumulação de produtos finais do metabolismo das células cutâneas, produtos de secreção das glândulas sebáceas e sudoríparas e microrganismos residentes, com nenhuma ou marginal importância para as funções cutâneas, acabou por revelar-se ser o produto de um complexo sistema de reacções fisiológicas, que por sua vez regulam vários processos envolvidos na manutenção da homeostase estrutural e funcional da pele (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). O pH da superfície cutânea desempenha, portanto, um importante papel na fisiologia da pele, influenciando directa ou indirectamente vários outros factores como a composição lipídica do estrato córneo, a hidratação do estrato córneo, a função barreira da pele, e a microbiota da pele. O pH ácido da pele proporciona um pH óptimo para enzimas como a glucocerebrosidase e fosfolipases, que são importantes na produção dos lípidos necessários à manutenção da permeabilidade da barreira. Tem sido demonstrado que a acidez da pele acelera o processo de reparação da função barreira (Ansari, 2009). Várias doenças de pele no Homem estão associadas a alterações no pH ou a instabilidades no meio ácido da superfície cutânea, por essa razão se têm investigado produtos de uso cutâneo, destinados a manter a pele em boas condições. Nestes, o pH desempenha um papel importante, ainda não completamente esclarecido (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Tem sido também referido que várias doenças sistémicas no Homem podem causar uma alteração no pH da superfície cutânea, entre elas a insuficiência renal crónica. A explicação para a alteração do pH nestas doenças não é clara (Yosipovitch & Hu, 2003), no entanto foi sugerido que estas alterações no pH poderiam estar na origem dos factores etiológicos do prurido nos pacientes humanos urémicos (Yosipovitch, Tur, Morduchowicz, & Boner, 1993). A pesquisa por nós efectuada poderá contribuir para determinar se o pH da pele de pacientes insuficientes renais crónicos poderá ter qualquer valor prognóstico.

A pele é o maior e mais acessível órgão de todo o corpo (Schmid-Wendtner & Korting, 2007), desempenhando uma vasta variedade de funções vitais para a manutenção da homeostasia (Tabela 2) (Foster & Foil, 2007). Para além de garantir uma adequada protecção contra danos físicos, químicos ou microbiológicos, detecta calor, frio, dor, prurido, sensação táctil e pressão através da sua componente sensorial (Muller, Miller & Griffin, 2001), mantendo também certas características físico-químicas como a estrutura, a hidratação, a temperatura, o pH e gradientes de oxigénio e dióxido de carbono (Ansari,

2009). Além disso, a pele é sinérgica em conjunto com os sistemas orgânicos internos, reflectindo a ocorrência de processos patológicos primários noutros locais ou partilhados com outros tecidos. A pele é um órgão com os seus próprios padrões reaccionais; não obstante, tem a capacidade de espelhar alterações inerentes ao meio interno bem como ao ambiente peculiar à qual está exposta (Muller et al., 2001). As suas estruturas fisiológicas e patológicas, as suas funções, a sua interacção com órgãos internos e com o ambiente estão, no entanto, longe de estarem completamente estudadas e compreendidas (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Tabela 2: Actividades da pele associadas à homeostasia (adaptado de Foster & Foil, 2007).

Função	Leque de Actividades
Barreira	Controla a perda de água, electrólitos etc. Rejeita agentes químicos, físicos e biológicos
Sensação	Calor, frio, dor, comichão, pressão
Regulação da temperatura	Isolamento, fluxo sanguíneo variável, sudção
Controlo hemodinâmico	Alterações vasculares periféricas
Secreção, excreção	Função glandular, crescimento piloso e epidérmico. Perda de gases, líquidos e solutos percutâneos
Síntese	Vitamina D
Função imunitária	Vigilância, resposta

PARTE I
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
O PH DE PELE

1. A ORIGEM DO PH

É de grande importância a actividade do ião hidrogénio nos sistemas biológicos. De acordo com Sørensen, o pH é definido como o logaritmo negativo (base dez) da concentração de iões de hidrogénio livres numa solução aquosa: $\text{pH} = -\log_{10} c_{\text{H}^+}$ (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

O ponto neutro é 7 e os valores do intervalo mínimos (ácido) e máximo (alcalino) são 0 e 14, respectivamente. Se o pH observado aumenta, a concentração de H^+ (acidez) diminui. Devido às diminutas quantidades envolvidas, é habitualmente usado o logaritmo negativo do número de moles por litro, em vez do valor numérico. O termo pH é uma abreviatura do termo em Latim "*pondus hydrogenii*". Tal como os logaritmos, os valores de pH não têm dimensão. Cada variação numa unidade de pH corresponde a uma variação de 10 vezes na concentração de H^+ . Por exemplo, a diferença entre um pH de 5.0 e 5.3 (0.5×10^{-5} gramas de iões por litro) é maior que a diferença entre um pH de 7.0 e 7.3 (0.5×10^{-7} gramas de iões por litro). Além disso, devido à escala logarítmica, a concentração de H^+ a um pH de 5.0 é o dobro daquela a um pH de 5.3 (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

A definição acima mencionada de pH é relativa apenas a soluções diluídas, uma vez que é só nestas que a concentração e a actividade da solução se igualam. Contudo, em muitos casos, o coeficiente de actividade é menor que um (o coeficiente de actividade do ião hidrogénio não é mensurável em soluções reais). De modo a superar-se esta questão, foram definidos os valores de pH de soluções tampão, e assim, foi estabelecida uma escala de pH convencional (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

2. MEDIÇÃO DO pH DA PELE

Foi Heuss, no final do século XIX, quem primeiro encontrou evidências de substâncias ácidas nas camadas superiores da pele humana. Nesta época, eram usados indicadores para a determinação colorimétrica do pH (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Cerca de 40 anos mais tarde, Schade e Marchionini, na Alemanha, usaram um eléctrodo de hidrogénio, chamado “Glockenelektrode”, para as suas investigações, levando-os a estabelecer o chamado “conceito de manto ácido” da pele (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Desde que Blank (1939) introduziu o eléctrodo de vidro na dermatologia, que podem ser feitas medições de pH de forma rotineira. O eléctrodo de vidro é baseado na produção de um potencial na zona de interface entre a solução teste e a membrana de vidro. Para que se possa obter um valor de pH é necessário um eléctrodo de medição (eléctrodo de vidro) e um eléctrodo de referência. Hoje em dia, é na forma de um eléctrodo combinado que se realizam as medições de pH (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

2.1. A evolução dos métodos utilizados na medição do pH da pele

Em química, o pH é medido com o intuito de se determinar o equilíbrio ácido-básico de soluções aquosas. No entanto, a pele não é uma solução aquosa, e por esse motivo a definição de pH não deve ser aplicada à determinação da acidez da pele. Rieger (citado por (Schmid-Wendtner & Korting, 2007) considerou que os valores de pH da superfície da pele medidos são apenas valores aparentes devido aos componentes solúveis do estrato córneo serem extraídos para a interface líquida que se encontra entre a pele e o medidor de pH. Até hoje, não se sabe se o pH medido na pele reflecte verdadeiramente a concentração de iões de hidrogénio da água intercelular, provavelmente distribuída em forma de pequenas colecções associadas aos lípidos do estrato córneo, ou se representa a acidez combinada dos corneócitos expostos, lípidos e compostos solúveis. Contudo, é indiscutível o facto de os iões de hidrogénio não estarem numa solução pura na superfície da pele, e da sua actividade ser afectada pela concentração de outros componentes e composição do seu ambiente (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Antes de existirem os métodos electrométricos, outros haviam sido utilizados para a determinação do pH da superfície cutânea. O método colorimétrico, utilizando soluções aquosas transparentes, é altamente preciso quando realizado *in vitro*. A precisão é de ± 0.5 quando comparada com ± 0.2 dos métodos electrométricos. No início dos anos 30, Lustig e Perutz (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) introduziram um método simplificado, a chamada colorimetria em folha. Mais tarde, foram introduzidas as determinações de pH potenciométricas. Neste método, eram medidos impulsos eléctricos com um eléctrodo, sendo a diferença de potencial medida com um potenciómetro. A medição de pH

electrométrica, através do uso de eléctrodos de vidro, representa um progresso em relação aos eléctrodos de hidrogénio, quinidrona ou antimónio (Blank, 1939). Para dar resposta aos específicos requisitos inerentes às medições de pH da pele, foi desenvolvido um eléctrodo plano com uma unidade contendo o eléctrodo activo e o de referência. Este encontra-se em uso desde 1972, sendo superior a outros métodos potenciométricos, tanto em sensibilidade como em fiabilidade. As vantagens mais significativas são um melhor contacto com a pele e a precisão de medição de ± 0.1 . Além disso, o uso do eléctrodo é não invasivo, e a corrente eléctrica é diminuta, não causando qualquer dano (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). A pequena voltagem eléctrica produzida pelos eléctrodos planos actuais, é medida e mostrada como um valor de pH (Ehlers, Ivens, Moller, Senderovitz, & Serup, 2001).

Recentemente, foi introduzido um novo método de medição de pH, que emprega o uso de tecnologia de transistor de pH. Este método parece ser particularmente adequado para medições de pH de materiais semi-sólidos ou muito viscosos, em que um eléctrodo de vidro dificilmente opera. As vantagens deste método prendem-se com facto de se poderem realizar medições em áreas ou volumes muito pequenos (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Outros métodos de medição de pH foram desenvolvidos ao longo dos últimos 15 anos, como a introdução de microeléctrodos, a aplicação de corantes sensíveis a pH seguidas de microscopia confocal a laser, e imagiologia por microscopia electrónica de spin. Contudo, estes métodos, para além de demasiado sofisticados, são mais caros, não sendo, por esse motivo, utilizados por rotina (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

2.2. Eléctrodos de vidro

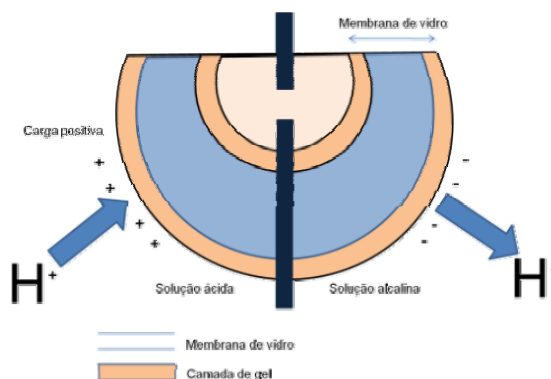
Os eléctrodos de vidro têm uma chamada camada ou zona de gel; contudo, este é um termo enganador, uma vez que a superfície contém muito pouca água. É importante que esta superfície exterior não seque durante as medições. A função de medição resulta da formação de uma fronteira de potencial à medida que é atingido o equilíbrio entre o potencial electroquímico dos iões de hidrogénio na solução e na membrana de vidro. O interior da membrana é exposto a uma solução tampão definida, o tampão interno, cujo pH proporciona o zero da célula de medição ($\text{pH}_0=7$) (Figura 1) (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

O potencial total da membrana resulta da diferença entre a carga interna e externa. Isto é descrito pela equação de *Nernst* para eléctrodos de vidro: $U=U_0+U'_N (\text{pH}_0-\text{pH})$, em que U_0 é o potencial da célula no zero da célula pH_0 , e o U'_N é a inclinação da cadeia (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Uma vez que os reais valores de pH_0 e de U'_N são específicos de cada célula, é necessário realizar-se a calibração com o auxílio de soluções padrão antes de se efectuarem as medições. A membrana de vidro tem que ter uma certa condutividade eléctrica, de modo a que se meça o potencial U . É por esta razão que os primeiros eléctrodos de vidro tinham

membranas com grandes lâmpadas de finas paredes. Estas foram mais tarde substituídas por membranas planas de paredes mais espessas com melhor condutividade, tornando possível a aplicação em superfícies sólidas, sem o risco de se partirem (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Foi Schirren quem primeiro realizou, em meados dos anos 50, medições de pH fidedignas com o uso de eléctrodos de membrana de vidro plana com células de “Polymetron” (Schirren, 1955).

Figura 1: Representação esquemática do funcionamento da membrana de vidro (adaptado de Schmid-Wendtner & Korting, 2007).



2.3. Procedimentos práticos de medição de pH da pele

De acordo com o guia do para a avaliação in vivo do pH da superfície da pele do Grupo Europeu de Eficácia de Medição de Cosméticos e Outros Produtos Tópicos (EEMCO), há algumas considerações práticas que devem ser tidas em conta na realização das medições. Durante intervalos entre medições, o eléctrodo deve ser imerso numa solução de KCL ou em água destilada. Devem ser evitadas contaminações do eléctrodo. O medidor de pH deve ser calibrado antes das medições, usando-se para o efeito soluções tampão padrão com valores de pH conhecidos e estáveis. Depois de mergulhar o eléctrodo em água destilada, o topo plano do eléctrodo deve ser colocado na pele, exercendo-se uma ligeira pressão durante a medição. Uma calibração regular do eléctrodo é necessária cada 5 a 15 dias. Deve ser evitada a pressão excessiva, uma vez que isto influencia a extracção de material do estrato córneo e pode eliminar a água entre a pele e a membrana da sonda. Para além disto, é importante que as medições se realizem em condições controladas. A temperatura ambiente deve ser suficientemente baixa de modo a minimizar a sudorese (20 a 22°C) e a humidade relativa deve situar-se entre os 40 e os 60%. Os animais sujeitos às medições devem ser ambientados ao local onde estas se vão realizar durante pelo menos 20 minutos. Devem ser limpos a seco resíduos de produtos que tenham sido utilizados para a pele, bem como a gordura excessiva. A limpeza, mesmo com água pura, deve ser evitada, uma vez que pode afectar as medições. Após o uso de produtos para a pele é recomendado esperar-se um mínimo de 5 horas até se efectuarem as medições. Quanto ao uso de sabões

alcalinos, devem esperar-se 10 a 24 horas e no que respeita a banhos, deve esperar-se um período de 2 a 3 horas antes de se medirem os valores de pH da pele (Parra, Paye, & EEMCO Group, 2003).

3. O pH DA PELE NA FISIOLÓGIA CUTÂNEA

O valor ácido do pH medido na superfície da pele (“manto ácido”) foi durante muito tempo considerado como o resultado das secreções exócrinas das glândulas da pele, cuja função seria a regulação da microbiota bacteriana da pele. Actualmente, cada vez mais estudos têm sido publicados relativamente ao curso, constituintes e funções do valor do pH nas camadas mais profundas do estrato córneo. O meio ácido parece ter um papel central enquanto factor regulador da homeostase do estrato córneo, tendo maior relevância na manutenção da função da barreira, desde a normal maturação lipídica do estrato córneo até à descamação (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

3.1. As funções do pH da pele

As funções das substâncias orgânicas que contribuem para o ambiente ácido da camada córnea são muito extensas, ampliando o tradicional conceito de “manto ácido”. Elas afectam, presumivelmente a vários graus, toda a homeostase do estrato córneo, desde a sua origem epidérmica até à degradação enzimática (Tabela 3). Os efeitos antibacterianos, tão frequentemente enfatizados, podem ter uma menor importância (Rippke, Schreiner, & Schwanitz, 2002).

Tabela 3: Conceito alargado das componentes e funções do “manto ácido” da pele (adaptado de Rippke et al., 2002).

Meio ácido da camada córnea	Origem	Função
Estrato córneo superficial	Secreção exógena Sebo: ácidos gordos Suor: ácido láctico Aminoácidos	Defesa contra microrganismos patogénicos
	Queratinização Aminoácidos Ácido urocânico Ácido carboxílico de pirrolidona Catiões	Promoção enzimática da descamação
Estrato córneo profundo	Corpos lamelares: exocitose Bombas iónicas: iões de hidrogénio	Promoção enzimática da maturação dos lípidos da barreira

3.1.1. Função antimicrobiana do pH

Investigadores puseram a hipótese de a acidez da pele ter como função a protecção desta em infecções bacterianas e por leveduras. Em geral, são obtidas maiores contagens bacterianas com níveis de pH de pele alcalinos. Além disso, quando são colocadas bactérias gram-negativas numa pele alcalina, estas desaparecem mais lentamente do que

quando colocadas em pele acídica. Embora este possa não ser o primeiro mecanismo de defesa contra agentes patogénicos cutâneos, é sugerido que a relativa alcalinidade da pele dos canídeos poderá contribuir para uma maior frequência de infecções cutâneas, quando comparados com o Homem ou outras espécies animais. No entanto, existem outras razões possíveis para a maior incidência de piodermite provocada por estafilococos no cão, como por exemplo a fina espessura do estrato córneo da epiderme canina, a menor quantidade de lípidos intercelulares ou a ausência de tampão lipídico protector em torno do infundíbulo dos folículos pilosos dos canídeos. Krogh e Kristensen (citado por Matousek & Campbell, 2002), detectaram que 50% das zaragatoas cutâneas de 10 gatos saudáveis eram estéreis, contrastando com os 20% em cães, sugerindo que os cães poderão ter um maior nível de bactérias na pele que os gatos, que têm menor ocorrência de infecções de pele.

Estudos *in vitro* e *in vivo*, provaram que o pH da pele pode afectar o crescimento da sua microbiota. Em geral, um pH menor que 4.0 ou 5.0 previne o crescimento microbiano. Embora a maioria da microbiota cutânea consiga sobreviver sob um alargado espectro de valores de pH encontrados na pele, pequenas alterações, poderão criar vantagens ou desvantagens para alguns microrganismos (Matousek & Campbell, 2002).

É sugerido também que o pH da pele pode alterar a virulência de um organismo ou a susceptibilidade do hospedeiro. O pH alcalino, poderá favorecer o desenvolvimento da forma micelar de *C. albicans*, que é mais patogénica que a forma de levedura (Matousek & Campbell, 2002).

3.1.2. Manutenção da microbiota cutânea

A densidade da microbiota cutânea difere nas várias localizações anatómicas. O pH da pele poderá ter um papel importante na selecção da população bacteriana e de leveduras residente (Matousek & Campbell, 2002).

3.1.3. Queratinização e descamação

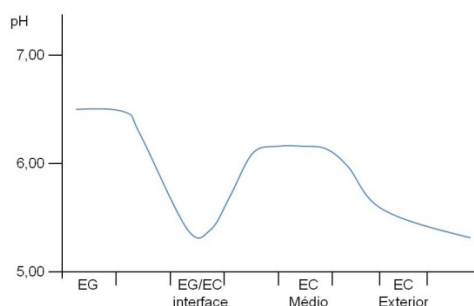
Os processos de queratinização e descamação são complexos e envolvem alterações nas queratinas, nos lípidos e funções enzimáticas. Nos últimos 20 anos, investigadores têm demonstrado que o gradiente de pH encontrado entre a camada granular superior e o estrato córneo têm algum tipo de função (Matousek & Campbell, 2002). Os mesmos autores pensam que este gradiente possa ter um papel importante no controlo de enzimas que actuam no processamento lipídico e na adesão dos corneócitos.

3.2. Gradiente de pH

Resultados de estudos realizados nos anos 50, indicando um “gradiente duplo de pH” presente na camada córnea, foram confirmados e descritos mais precisamente, pouco tempo depois, por Locher (citado por Rippke et al., 2002). O método mais utilizado para

demonstrar que a acidez da pele se estende para além do filme lipídico superficial é o “tape stripping”, e neste foi demonstrado que ocorre um gradiente de pH do estrato córneo do Homem (≈ 5.0) para a camada granular superior (≈ 7.0) (Figura 2). Neste método, são removidas consecutivamente camadas de células com o auxílio de pedaços de fita-cola, sendo o pH das camadas remanescentes medido. Em geral, o pH da pele aumenta com o aumento do número de “tape stripping’s” (Matousek & Campbell, 2002). O pH mais elevado, que é neutro, é obtido na epiderme viável, à qual falta a matriz lipídica extracelular rica em ceramidas, característica do estrato córneo (Hanson, Behne, Barry, Mauro, Gratton, & Clegg, 2002). Este gradiente de pH, parece ter um papel importante no processo de queratinização, através da regulação de enzimas dependentes de pH (Matousek & Campbell, 2002).

Figura 2: Gradiente bifásico de pH nas diferentes camadas do estrato córneo e estrato granuloso (adaptado de Fluhr & Elias, 2002).



EG = estrato granuloso, EC = estrato córneo

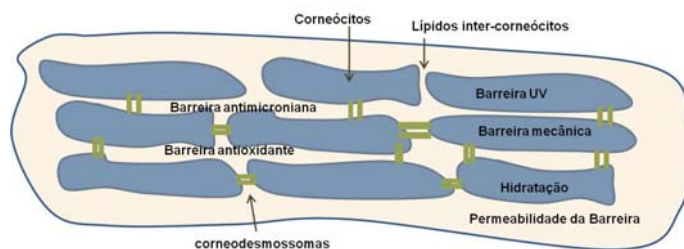
3.3. Composição do estrato córneo

Para uma maior compreensão do gradiente de pH é necessário olhar primeiro para a composição do estrato córneo. O estrato córneo é a camada mais externa da epiderme e é o mediador primário da função barreira (Figura 3) (Lee, Jeonh, & Ahn, 2006). O estrato córneo da maioria das regiões corporais dos canídeos compreende aproximadamente 45 a 52 camadas. As células achatadas poliédricas que formam esta camada compacta (Figura 4) são compostas principalmente de agregados de queratina e filagrina dentro de um envelope cornificado substituto da membrana plasmática (Foster & Foil, 2007).

A filagrina, uma proteína rica em histidina, é responsável pela compactação e transformação dos queratinócitos em corneócitos, e é através da degradação da filagrina que são formados os componentes do factor de hidratação natural (FHN), um colector de humidade que mantém um mínimo de hidratação das camadas médias e mais profundas do estrato córneo (Agache, 2004). As células do estrato córneo são libertadas continuamente a partir da superfície da pele por um processo designado de descamação que, numa pele saudável, ocorre em equilíbrio com os processos de proliferação e diferenciação (Foster & Foil, 2007), os quais mantêm uma constante espessura epidérmica (Muller et al., 2001). Estes

processos de descamação, proliferação e diferenciação são influenciados pelos lípidos da epiderme. A interacção entre a porção lipídica do envelope celular cornificado e a lamela intercelular é importante para a normal coesão e função da permeabilidade da barreira epidérmica (Foster & Foil, 2007). A coesão dos corneócitos diminui, de modo complexo, à medida que as células avançam no sentido da superfície cutânea. Pelo menos em parte, este processo é controlado por enzimas dependentes do pH, activas no espaço entre os corneócitos (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). O estrato córneo, por ser formado por várias camadas suspensas numa matriz de lípidos extracelulares, é muitas vezes comparado a uma série de “tijolos” ligados por um “cimento” (Muller et al., 2001) em que a queratina e a porção interior do envelope cornificado formam os “tijolos”, e os lípidos, o “cimento” que mantém os corneócitos juntos proporcionando uma barreira hidrofóbica (Foster & Foil, 2007).

Figura 3: Localização de várias funções protectoras no estrato córneo (adaptado de Lee et al., 2006).



Enquanto os corneócitos (“tijolos”) servem de barreira mecânica e ultravioleta (UV), tendo também um papel hidratante no estrato córneo, os lípidos, localizados no espaço intercelular, realizam funções de barreira antimicrobiana, barreira antioxidante e barreira de permeabilidade. Estas funções protectoras estão intimamente relacionadas, podendo a modulação de uma função afectar todas as outras (Lee et al., 2006).

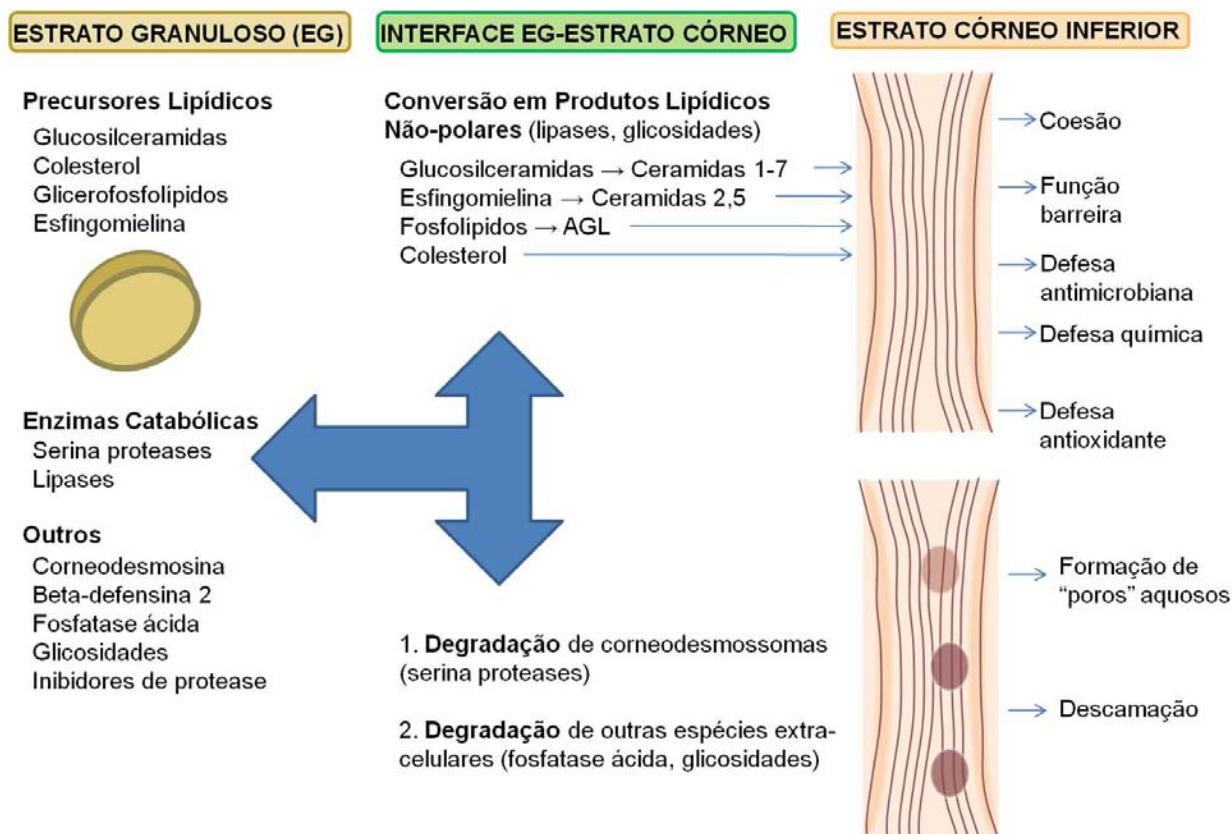
Figura 4: Fotografia electrónica de varrimento de estrato córneo congelado hidratado canino, mostrando o arranjo compacto em camadas das escamas (Reproduzida do BSAVA Manual of Small Animal Dermatology, 2ª edição, editado por Aiden Foster e Carol Foil, com a permissão da BSAVA Publications. © BSAVA).



O estrato córneo contém aproximadamente 15% de água e 70% de proteína, ao contrário dos queratinócitos na epiderme viável que contêm 70% de água e 15% de proteína. O teor em água do estrato córneo é determinado pelo número e tipo de componentes ligantes da água. Estes são proteínas, aminoácidos, fosfolípidos e o FHN que inclui aminoácidos, o ácido carboxílico de pirrolidona, ácido láctico, ureia, ácido urocânico e alguns iões. O compartimento interno dos corneócitos é o local primário de ligação de água uma vez que é relativamente mais polar que o domínio lipídico intercelular (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Os corpos lamelares são grânulos secretores especializados, presentes nos queratinócitos e considerados essenciais na formação da permeabilidade da barreira epidérmica (Figura 5). Os componentes lipídicos que formam os lípidos intercelulares do estrato córneo, como a glucosilceramida, o colesterol e os fosfolípidos, são entregues pelos corpos lamelares e pelas suas respectivas enzimas processadoras extracelulares, como a β -glucocerebrosidase, a esfingomielinase ácida e a fosfolipase A_2 secretora (sFLA₂). O conteúdo heterogêneo dos corpos lamelares sugere que eles são importantes não só para as funções de permeabilidade da barreira epidérmica, mas também para as outras funções de defesa exercidas pelo estrato córneo (Lee et al., 2006).

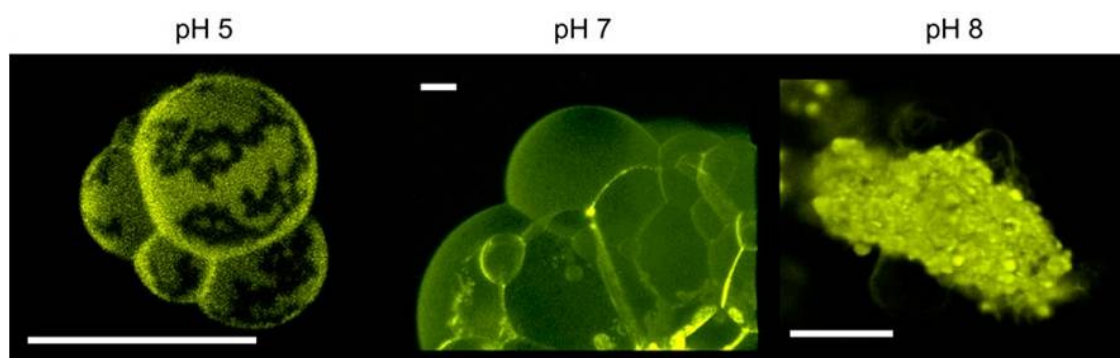
Figura 5: A secreção dos corpos lamelares dita a localização de múltiplas funções ao compartimento extracelular (adaptado de Elias, 2005).



Os lípidos intercelulares representam aproximadamente 15% do peso do estrato córneo (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Eles desempenham um papel muito importante na diferenciação, estrutura e função da epiderme. A composição lipídica da epiderme muda dramaticamente durante a queratinização, começando com grandes quantidades de fosfolípidos e terminando predominantemente com colesterol, ácidos gordos saturados de cadeia longa e ceramidas (Muller et al., 2001), presentes num rácio molar aproximado de 1:1:1 (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Os corneócitos em maturação contêm cerca de 6 vezes mais lípidos intracelulares que os queratinócitos da camada basal. Foi sugerido que os lípidos superficiais dos cães seriam principalmente de origem epidérmica, enquanto os do Homem seriam principalmente oriundos das glândulas sebáceas (Muller et al., 2001). De acordo com Schaefer e Redelmeier (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) a principal função destes lípidos é impedir a perda de água dos corneócitos. É por essa razão que o teor em água do domínio lipídico intercelular é muito baixo (aproximadamente 2-30 mM). No entanto, essa não é a única função dos lípidos, sendo eles importantes também para a função barreira, para a coesão e descamação dos corneócitos e para o controlo da proliferação e diferenciação epidérmica (Elias, 2005).

Plasencia et al. (2007) avaliaram os efeitos do pH no comportamento da matriz lipídica do estrato córneo. Estes investigadores detectaram, através de microscopia de fluorescência, que a pH 5, a mistura de ceramidas e colesterol extraída de lípidos do estrato córneo humano apresentava coexistência de 2 fases de gel micrométricas. A pH 7 era observada uma distribuição homogénea da sonda fluorescente, seguida por uma forte destabilização das estruturas lipídicas a pH 8 (Figura 6). Com estes resultados, os autores concluíram que o pH do estrato córneo pode ter a capacidade de controlar as propriedades físicas da matriz lipídica extracelular, através da regulação da estrutura e estabilidade membranar.

Figura 6: Efeito do pH nas membranas da fracção de ceramidas e colesterol extraídas dos lípidos de estrato córneo humano ($_{HSC}(\text{Cer}/\text{Chol})$)/ácidos gordos livres (AGL) (utilização de imagem autorizada pelos autores Plasencia, Norlén, & Bagatolli, 2007).

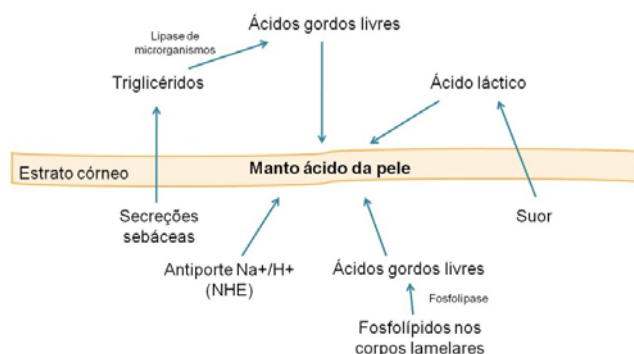


Imagens de microscopia confocal de perclorato de 1,1'-Dioctadecil-3,3,3'-tetrametilindocarbocianina (Dil_{C18}) membranas rotuladas de $_{HSC}(\text{Cer}/\text{Chol})/\text{AGL}$ a diferentes valores de pH. Bar de 20 μm (Plasencia, Norlén, & Bagatolli, 2007).

3.4. Acidificação do estrato córneo

A reacção química acídica mensurável na superfície da pele é o resultado da interacção de um grande número de dadores de prótons endógenos de várias origens. Estes incluem o ácido láctico e seus derivados voláteis, como o ácido acético e propiónico provenientes do suor; ácidos gordos livres provenientes das secreções sebáceas ou da síntese proveniente da degradação do sebo por bactérias; lípidos acídicos como o colesterol sulfato e o grupo de FHN's já antes mencionado (Figura 7). Também os produtos de degradação da filagrina (ácido urocânico, ácido carboxílico de pirrolidona) contribuem para a acidez da pele (Schmid-Wendtner & Korting, 2007; Matousek & Campbell, 2002; Parra et al., 2003). Para além destes, também estão presentes moléculas que aumentam a alcalinidade da pele. Um exemplo é a amónia, um dos produtos de degradação da acção bacteriana. A amónia evapora rapidamente e a pele volta à acidez, devido à elevada e constante ionização do ácido acético. Também o dióxido de carbono e o bicarbonato, provenientes do suor, podem aumentar o pH da pele (Matousek & Campbell, 2002; Parra et al., 2003).

Figura 7: Os factores endógenos e exógenos que afectam a acidificação do estrato córneo (adaptado de Lee et al., 2006).



Como factores exógenos, os AGL, derivados das glândulas sudoríparas ou catalisados do triglicérol originado das glândulas sebáceas pelas lipases secretadas por microrganismos. Os AGL endógenos, são derivados dos fosfolípidos através da fosfolipase A₂ (FLA2), ambos secretados pelos corpos lamelares na interface estrato córneo - estrato granuloso. O antiporte Na⁺/H⁺ está também envolvido na manutenção do manto ácido da pele (Lee et al., 2006).

3.4.1. Sudação nos carnívoros

É importante referir que os carnívoros não possuem glândulas sudoríparas atriquiaais nas suas regiões de densidade pilosa elevada. A frequência de sudação e as circunstâncias sob as quais a sudação ocorre nos cães é pouco clara. Alguns autores referem que os cães demonstram grande variação no seu grau de sudação epitriquiaal e que algumas raças, como o Pastor Alemão, Retriever do Labrador e outras de grande porte, podem apresentar sudação visível na axila, virilha, e abdómen ventral (citado por Muller et al., 2001). Outros autores constataram também a ocorrência de sudação epitriquiaal ocasional em cães febris e

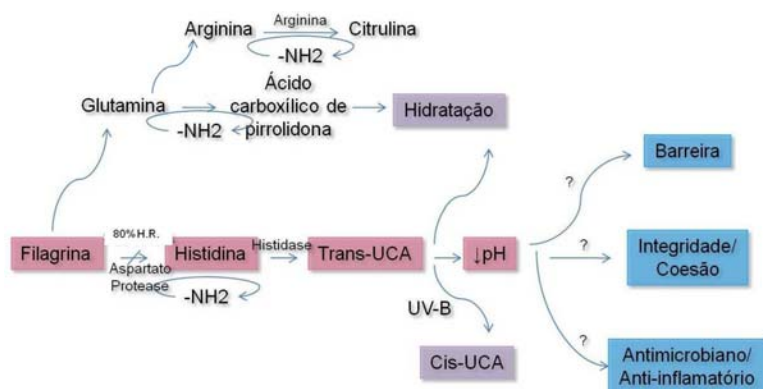
excitados (citado por Muller et al., 2001). Outros ainda relataram a ausência de sudação epitriqual em cães submetidos a um stress de temperatura severo e generalizado e em cães que se debatiam violentamente (citado por Muller et al., 2001). A sudação atriquial pode ser detectada nas almofadinhas plantares de cães e gatos agitados ou excitados (Muller et al., 2001).

3.4.2. Sistemas responsáveis pela capacidade tampão da superfície da pele

Para a capacidade tampão da superfície da pele, são necessários sistemas dadores/receptores de prótons. Os principais sistemas tampão são o lactato/bicarbonato e o ácido carbónico/bicarbonato (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Segundo Rippke et al. (2002), diferentes ácidos orgânicos estão envolvidos ao longo do gradiente, em diferentes graus, sendo os alfa-hidroxiácidos exócrinos das glândulas sudoríparas e os ácidos gordos das glândulas sebáceas secretados para a superfície da pele co-responsáveis, juntamente com o ácido urocânico e o ácido carboxílico de pirrolidona e alguns aminoácidos.

Os produtos de degradação da filagrina, em conjunto com o sulfato de colesterol são, pelo menos em parte, responsáveis pelo meio ácido nos compartimentos inferiores da camada córnea (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). A filagrina, após sofrer uma proteólise parcial, dá origem a um “pool” de aminoácidos nos corneócitos, que é progressivamente metabolizado de modo a formar o ácido urocânico (da histidina), alanina (do ácido aspártico) e o ácido carboxílico de pirrolidona (do ácido glutâmico). Os aminoácidos presentes no “pool”, os seus metabolitos, vários resíduos glucídicos e os lactatos (da degradação glucídica) fazem parte dos componentes principais do FHN (Figura 8) (Parra et al., 2003).

Figura 8: Funções potencialmente afectadas pelo metabolismo da filagrina no estrato córneo (adaptado de Elias, 2005).



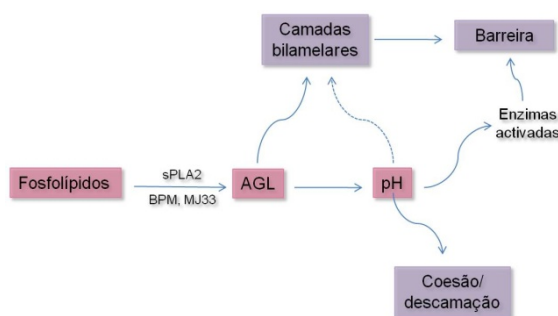
H.R.= Humidade relativa; UCA = Ácido urocânico

Krien & Kermici (2000) enfatizaram o papel central do ácido urocânico no gradiente de pH das camadas exteriores do estrato córneo, uma vez que as espécies iónicas responsáveis pela acidez da pele tinham um pK que era quase idêntico ao do ácido urocânico. Além

disso, foi postulada uma auto-regulação do teor em ácido urocânico da pele, através da actividade histidase pH-dependente. Estes resultados foram correlacionados com a quebra de filagrina em aminoácidos livres, bem como com a alteração resultante na capacidade tampão dos protões do meio intracorneal, assumida como de grande relevância para a manutenção do “manto ácido” da superfície cutânea (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Apenas recentemente, o “pool” de ácidos gordos livres, resultantes da hidrólise mediada pela fosfolipase dos fosfolípidos da epiderme durante a cornificação, foi reconhecida como tendo um papel central na normal acidificação do estrato córneo (Fluhr, Kao, Jain, Ahn, Feingold, & Elias, 2001). Quando a actividade da fosfolipase é bloqueada, o pH do estrato córneo aumenta, resultando em anomalias tanto na função barreira como na integridade e coesão do estrato córneo (Figura 9) (Elias, 2005).

Figura 9: Consequências estruturais e funcionais da acidificação do estrato córneo (adaptado de Fluhr & Elias, 2002).



AGL = ácidos gordos livres; sPLA₂ = fosfolipases extracelulares secretoras; BPM = brometo de p-bromofenacil; MJ33 = 1-hexadecil-3-(trifluoroetil)-sn-glicero-2-fosfometanol (ambos inibidores de sPLA₂).

Nos últimos anos, Behne et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) identificaram várias proteínas antiportais de sódio/hidrogénio nos queratinócitos. Eles conseguiram suprimir a acidificação extracelular da epiderme superior através da inibição farmacológica destas bombas de protões. Ratos de laboratório sem o transportador de ião de hidrogénio específico NHE1 apresentaram uma descamação pronunciada e mostraram uma estrutura alterada do estrato córneo. A eliminação do NHE1 em ratos de laboratório resultou numa diminuição da acidificação na interface estrato granuloso - estrato córneo. A homeostase da permeabilidade da barreira foi considerada anormal nos ratos NHE1 transgénicos, com os animais NHE1 ^{-/-} a mostrar uma recuperação mais lenta da barreira. Com base nos seus resultados experimentais, Behne et al. (2002) especularam que o NHE1 proporciona um passo inicial no estabelecimento da acidez do estrato córneo, necessária a uma permeabilidade da barreira intacta numa epiderme normal.

Embora o manto ácido do estrato córneo tenha sido reconhecido há décadas, a sua origem mantém-se incompletamente compreendida. Em suma, são reconhecidos mecanismos

exógenos e endógenos à epiderme para explicar a origem do manto ácido. Os exógenos incluem a formação de metabolitos microbianos, AGL de origem pilossebácea e produtos derivados das glândulas écrinas, como o ácido láctico. Alternativamente, têm sido implicados processos endógenos que incluem a síntese de ácido urocânico a partir da histidina, a síntese de AGL a partir da hidrólise fosfolipídica e um antiporte e sódio/hidrogénio (Fluhr et al., 2004).

Na epiderme dos mamíferos, presumiu-se que o papel biofísico das ceramidases, o grupo de isoenzimas que geram a molécula bioactiva esfingosina, a partir de ceramidas, com libertação de AGL, era essencialmente a de enzimas-chave na produção de esfingolípidos, ou seja, ceramidas, esfingosinas e esfingosina-1-fosfato, afectando o destino dos queratinócitos. Houben et al. (2008) demonstraram recentemente que a actividade da ceramidase epidérmica também contribuía para a acidificação do estrato córneo, através da libertação de AGL a partir de ceramidas. A aplicação tópica de N-oleoletanolamina, uma substância que inibe a actividade da ceramidase, revelou um aumento do pH do estrato córneo após 3 dias de tratamento. Foi também possível observar paralelamente uma diminuição no conteúdo em AGL da epiderme, corroborando a hipótese de a inibição da ceramidase ser a razão pelo aumento do pH detectado. Os autores concluíram então que a actividade da ceramidase poderia ser considerada como uma via endógena para a acidificação do estrato córneo, trabalhando em conjunto com a fosfolipase A₂ e o NHE1.

3.5. O pH das mucosas

As mucosas estão inseridas num ambiente húmido dependendo das secreções locais. O pH da sua superfície é directamente influenciado pelo pH destas secreções. Na boca, o pH da saliva do Homem varia entre 5.5 e 7.0 e depende da taxa de secreção. A elevadas taxas, a concentração em bicarbonato, o sistema tampão mais potente da saliva, aumenta, levando a um aumento do pH. A mucosa nasal, por sua vez, está coberta por uma secreção mucóide com um pH de cerca de 5.5. Aqui, o papel principal, parece ser a prevenção do desenvolvimento de bactérias patogénicas e fungos. Para a mucosa ocular, o contacto com a secreção lacrimal de pH neutro é importante. Ácidos ou bases fortes são capazes de induzir queimaduras químicas no epitélio ocular. Para o pH da mucosa vaginal das mulheres, estão descritas variações durante o ciclo menstrual, induzidas por alterações na conversão do lactato para ácido láctico. Neste local, são consideradas normais flutuações de pH entre 3.8 e 4.2 (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

4. A IMPORTÂNCIA DO pH DO ESTRATO CÓRNEO PARA A HOMEOSTASE DA PERMEABILIDADE DA BARREIRA - CONTROLO ENZIMÁTICO

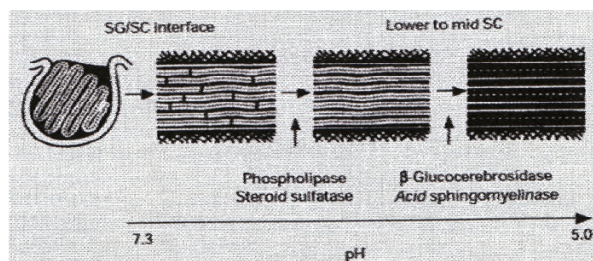
A função da permeabilidade da barreira epidérmica é a manutenção da homeostase da pele, sendo que uma perturbação da função barreira afecta significativamente a qualidade geral da pele. Muitos estudos têm sugerido que os defeitos na função da permeabilidade da barreira não são consequências secundárias, mas factores críticos para o desenvolvimento de várias doenças de pele. Portanto, compreender a base molecular da função barreira e as suas respostas homeostáticas pode favorecer não só uma terapêutica mais racional das doenças de pele com dano da barreira, mas também melhorar a especificidade e eficácia dos tratamentos para a pele quando em presença de uma estrutura ou função anormal do estrato córneo (Lee et al., 2006).

A importância do pH do estrato córneo para a homeostase da permeabilidade da barreira é sugerida não só pela deterioração da função barreira quando a pele intacta é exposta a um pH alcalino, mas também pelo atraso que ocorre no restabelecimento da barreira quando pele lesada é exposta a um pH neutro. Existem duas formas pelas quais o pH influencia a função barreira. Em primeiro lugar, directamente através dos efeitos na organização da bicamada membranar como publicado por Osborne e Friberg há 20 anos atrás (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Em segundo lugar, o pH influencia a função barreira através da regulação do processamento dos lípidos extracelulares (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). O sequestro de lípidos nos espaços intercelulares do estrato córneo resulta da secreção dos componentes ricos em lípidos dos corpos lamelares das células periféricas granulares. O processamento lipídico refere-se à conversão pós-secretória dos precursores lipídicos polares secretados, derivados dos corpos lamelares, para os seus produtos lipídicos não-polares (Figura 10) (Hachem et al., 2005). Existem algumas enzimas hidrolíticas, dependentes de pH, envolvidas neste processo; são elas: a fosfolipase A₂; a esteróide sulfatase; enzimas quimotrípticas; β -glucocerebrosidase, que tem um pH óptimo de 5.6 e é a enzima envolvida na síntese dos lípidos mais importantes da barreira, as ceramidas; esfingomielinase ácida, que tem um pH óptimo de 4.5 e acil-coenzima A-transferase. Sabe-se que estas enzimas têm diferentes pH óptimos (Schmid-Wendtner & Korting, 2007; Rippke et al., 2002).

A formação da barreira requer a transformação dos lípidos inicialmente secretados, que são principalmente glucosilceramidas, colesterol e fosfolípidos, para uma mistura menos polar enriquecida em ceramidas, colesterol e ácidos gordos livres. Parte do colesterol é convertida em sulfato de colesterol pela acção da colesterol sulfotransferase. A quantidade total de ceramidas também aumenta progressivamente desde as camadas mais profundas da epiderme até às camadas mais superficiais. Isto é feito através da conversão de

esfingomielinas e glicosilceramidas pelas esfingomielinases e cerebrosidades, respectivamente (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Figura 10: Distribuição de lípidos dos corpos lamelares na interface estrato córneo - estrato granuloso, ocorrendo subsequentemente fusão dos lípidos distribuídos em bicamadas lamelares no estrato córneo superior (utilização de imagem autorizada pelos autores Fluhr & Elias, 2002).

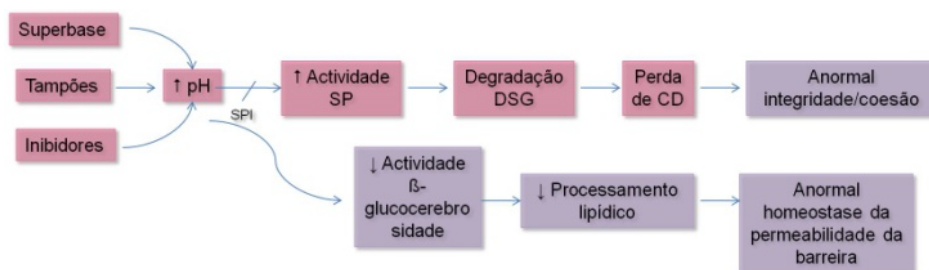


4.1. Restabelecimento da barreira dependente de pH

Mauro et al. (1998) investigaram se o restabelecimento da barreira, após danos agudos, necessitava da acidificação do estrato córneo. Primeiro, os autores observaram que o restabelecimento da barreira da pele exposta a um pH extracelular ácido ocorria mais rapidamente que na pele exposta a um pH neutro. Segundo, os autores determinaram que o atraso no restabelecimento da barreira não se devia nem a alterações nos iões extracelulares (Ca^{2+} , K^{+}), nem à inibição da extrusão do conteúdo dos corpos lamelares. Em terceiro, eles descobriram que, a pele exposta a pH neutro apresentava um arranjo anormal das estruturas dos corpos lamelares extracelulares. Estes investigadores usaram depois pele humana para demonstrar que a actividade da β-glucocerebrosidase (a enzima epidérmica ácido-dependente responsável pelo processamento extracelular de lípidos) a um pH de 7.4 se encontrava diminuída 10 vezes quando comparada a um pH de 5.5. Com base nas suas investigações, os autores concluíram que é necessário um pH extracelular ácido para a iniciação do restabelecimento da barreira, e que o atraso nessa recuperação é uma consequência da inibição do processamento de lípidos pós secretores.

Hachem et al. (2003) puderam demonstrar que a aplicação a curto-prazo de superbases (compostos 10 vezes mais básicos do que os encontrados em 1N de hidróxido de sódio) retardava o restabelecimento da permeabilidade da barreira após perturbação aguda por “tape stripping” ou tratamento com acetona, embora se mantivesse normal a função basal. Isto envolveu a necessidade de um pH ácido para uma máxima actividade catalítica das enzimas processadoras de lípidos, como por exemplo a β-glucocerebrosidase. Os efeitos deletérios de um pH elevado foram então relacionados com a elevada actividade da serina protease, uma vez que inibidores da serina protease co-aplicados normalizaram tanto a integridade/coesão do estrato córneo como a degradação de corneodesmossomas, mesmo em presença de um pH elevado (Figura 11).

Figura 11: Métodos para um aumento experimental do pH do estrato córneo e suas consequências mecânicas (adaptado de Hachem et al., 2003).



SPI = inibidores de serina protease; SP = serina protease; DSG = desmogleína; CD = corneodesmosomas.

Concluído o facto de um pH elevado comprometer a estrutura e função do estrato córneo, Hachem et al. (2010) quiseram saber se a hiperacidificação do estrato córneo melhoraria essa estrutura e função. Eles baixaram então o pH do estrato córneo de ratos usando 2 poli-hidróxi-ácidos (PHA), o ácido lactobiónico (LBA) ou a gluconolactona (GL). A hiperacidificação melhorou a homeostase da permeabilidade da barreira, tendo os autores atribuído esta melhoria ao aumento da actividade das enzimas hidrolíticas envolvidas na síntese de ceramida, β -glucocerebrosidase e esfingomielinase ácida, correlacionando-se esta melhoria com a maturação extracelular acelerada das membranas lamelares do estrato córneo. Em conclusão, a hiperacidificação gera uma “super-barreira”, em grande parte através do impacto nas actividades das enzimas da descamação e processadoras de lípidos. Os autores concluíram também que a redução no pH não produzia inflamação ou hiperplasia, nem provocava alterações na síntese lipídica da epiderme.

4.2. Efeitos da neutralização do estrato córneo

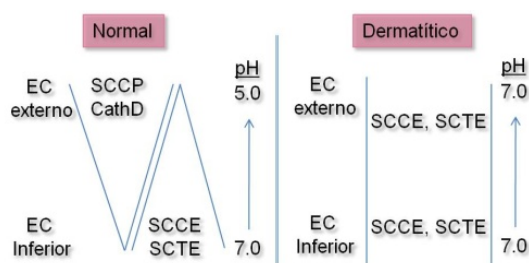
Uma vez que um aumento continuado no pH do estrato córneo é característico da maioria, se não de todas as dermatoses crónicas inflamatórias no Homem, Hachem et al. (2005) avaliaram se elevações prolongadas no pH do estrato córneo poderiam provocar anomalias funcionais. Esta neutralização resultou em alterações na integridade/coesão do estrato córneo que foram atribuídas à actividade continuada da serina protease e à acelerada degradação de corneodesmosomas mediada por esta enzima. Os resultados mostraram que uma neutralização continuada leva a um processamento lipídico anormal, relacionado com uma actividade da serina protease prolongada, que por sua vez explica as anomalias na homeostase da permeabilidade da barreira. Para explorar os mecanismos responsáveis pela anormal homeostase da barreira e pelo deficiente processamento lipídico, os mesmos autores avaliaram em seguida a actividade de duas enzimas chave no processamento lipídico, com um pH óptimo ácido conhecido, a β -glucocerebrosidase e a esfingomielinase. Ambas as actividades enzimáticas diminuíram acentuadamente nos locais da pele que

foram neutralizados durante 5 dias. Foi, para além disso, demonstrado que a degradação proteolítica de ambas, β -glucocerebrosidade e esfingomielinase, ocorre em presença de um aumento continuado no pH do estrato córneo. Em síntese, os autores puderam demonstrar que aumentos continuados no pH do estrato córneo, através da estimulação da actividade da serina protease, afectam adversamente uma série de funções do estrato córneo, incluindo diminuição na integridade/coesão do estrato córneo e disfunção da permeabilidade e dos mecanismos relacionados com estas aberrações.

4.3. Consequências de um pH aumentado na integridade e coesão do estrato córneo

A integridade/coesão, que é inversamente relacionada com taxas de libertação de corneócitos (descamação), representa outra função do estrato córneo que é pH dependente (Elias, 2005). De acordo com Brattsand e Caubert (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), a integridade/coesão do estrato córneo é regulada por duas enzimas proteolíticas: a enzima quimotríptica do estrato córneo específica da epiderme (SCCE) e a serina protease tríptica do estrato córneo (SCTE), calicreínas 7 e 5. Uma vez que a SCCE e a SCTE exibem um pH óptimo neutro a alcalino, activam-se a um pH elevado que é característico das dermatoses inflamatórias do Homem. As consequências negativas de um pH elevado na integridade/coesão do estrato córneo podem ser explicadas pela degradação catalisada pela serina protease dos corneodesmosomas e suas proteínas constituintes (desmogleína 1 e córneo-desmosina). Caubert et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) puderam mostrar que a calicreína 7 exhibe uma actividade residual a pH ácido. É provável que as actividades da SCCE/SCTE possam dominar na pele patológica, que exhibe condições óptimas para a activação da serina protease, através de um aumento do pH do estrato córneo (Figura 12).

Figura 12: Papel dependente de pH, proposto para as diferentes proteases de descamação na pele normal e dermatítica (adaptado de Elias, 2005).



SCCE = enzima quimotríptica do estrato córneo específica da epiderme; SCTE = serina protease tríptica do estrato córneo; Cath D = catepsina D; SCCP = cisteína protease do estrato córneo.

Estes processos que dependem do pH foram avaliados essencialmente em pele humana, onde a superfície é em geral ácida. Uma vez que existem diferenças entre espécies no pH

da pele, os resultados encontrados no Homem poderão não ser extrapoláveis para outros animais. Por exemplo, a enzima esterificante da vitamina A tem um pH óptimo de 5.6 no Homem, mas um pH óptimo neutro para os roedores. É, por isso, possível que os sistemas enzimáticos epidérmicos caninos, para sua activação, necessitem de diferentes níveis de pH daqueles identificados para as pessoas (Matousek & Campbell, 2002).

Um pH extracelular baixo é considerado um possível factor regulador para a actividade enzimática, no que concerne ao controlo de processos responsáveis pela queratinização e regeneração da barreira. No curso da evolução humana, algumas enzimas da pele adaptaram-se a este pH de modo a regularem a sua actividade. O papel fisiológico do pH é criar um ambiente propício ao processamento extracelular de certos precursores polares em lípidos não-polares, necessários à função barreira da pele e à sua manutenção. É com este conhecimento que se considera a aplicação tópica de substâncias tampão ácidas benéficas, no sentido em que podem dar uma importante contribuição à normal função barreira da pele (Rippke et al., 2002). Pigatto et al. (citado por Rippke et al., 2002) detectou um aumento médio no conteúdo em ácido linoleico dos lípidos do estrato córneo de 30%, e uma redução da descamação em pacientes com dermatite atópica aos quais tinha sido aplicado um creme contendo 10% de ureia e 5% de lactato de sódio a um pH 5, durante 15 dias.

5. O pH FISIOLÓGICO DA PELE

A superfície cutânea dos mamíferos é, em geral, acídica (Muller et al., 2001), estando no entanto descritos muitos intervalos de valores para o pH da pele. Esta diversidade é provavelmente devida a vários factores. Primeiro, têm sido utilizadas várias técnicas para medir o pH da pele, incluindo indicadores colorimétricos e eléctrodos (“gas chain bell”, quinidrona, vidro). Em segundo, o pH cutâneo varia entre indivíduos de uma mesma espécie e entre espécies (Matousek & Campbell, 2002).

5.1. Homem

Em geral, a pele do Homem é mais ácida que a pele de outras espécies de mamíferos (Tabela 4). O intervalo descrito para a pele do Homem saudável varia de pH ácido de 3.0 para pH quase neutro de 6.5. O intervalo entre 4.0 e 4.9 é o mais comum. A pele das crianças é menos ácida tendendo para a ligeira alcalinidade (entre 6.7 e 7.5) quando comparada com a pele dos adultos, e o pH é significativamente mais elevado (média de 6.77) nas primeiras 24 horas de vida, ocorrendo uma diminuição na semana seguinte (Matousek & Campbell, 2002).

Tabela 4: Valores médios de pH de pele descritos para várias espécies de mamíferos (adaptado de Matousek & Campbell, 2002).

Espécies de mamíferos	pH médio registado
Homem	4.8
Porquinho-da-índia	5.5
Cabra	5.9
Porco	6.3
Cavalo	6.3
Gato	6.4
Macaco	6.4
Rato	6.5
Gado	6.7
Coelho	6.7
Cão	7.4
Ovelha	8.1

O pH foi medido por meio de diferentes técnicas, podendo não ser directamente comparável.

5.2. Canídeos

O pH da pele dos canídeos difere do da pele do Homem, demonstrando ter tendência para ser o mais elevado das espécies de mamíferos. Têm sido reportados valores de pH de pele de canídeos saudáveis que variam entre os 4.84 e os 9.95 (Matousek & Campbell, 2002).

Draize, em 1941, investigou os valores de pH de pele de canídeos, felídeos e outras espécies de mamíferos, tendo detectado que a pele dos canídeos era a que apresentava os

valores mais elevados, atingindo já a alcalinidade. Draize encontrou, nos 40 cães que analisou, um pH médio de 7.52 (Draize, 1942).

Em 1991, Meyer e Neurand, determinaram o pH da pele de cães e gatos de diferentes raças, não especificando nem as idades, nem o número de animais incluídos no estudo. Os resultados revelaram que o pH da pele era ligeiramente ácido para neutro, variando nos canídeos entre os 5.86 na região lateral do dorso e os 7.42 na região naso-labial. Nos felídeos, o pH da pele variava entre os 5.73 na região lateral do dorso e os 7.97 na região naso-labial (Meyer & Neurand, 1991).

Ruedisueli et al. (1998) determinaram o pH da pele de 12 cães, de raça Retriever do Labrador, com idades compreendidas entre 1 e 9 anos, no flanco, topo do crânio, face interna do pavilhão auricular, e região inguinal e axilar, com um medidor de pH de pele pH 900 da Courage & Khazaka (Colónia, Alemanha) e detectaram um pH médio no flanco de 7.48, no topo do crânio de 8.10 e no pavilhão auricular de 6.11.

Também Matousek et al. (2003) determinaram os valores de pH da pele da região dorsal toraco-lombar de 8 canídeos. Os valores variaram entre os 6.3 e os 9.0, tendo a média sido de 7.55.

Já em 2009, Vidal et al. (2009) determinaram o pH da pele de 121 cães, de 21 raças, com idades compreendidas entre 1 e 18 anos, na região inguinal, com um medidor de pH de pele Metler Toledo, França tendo detectado valores de pH de pele que variavam entre os 5.2 e os 9.2.

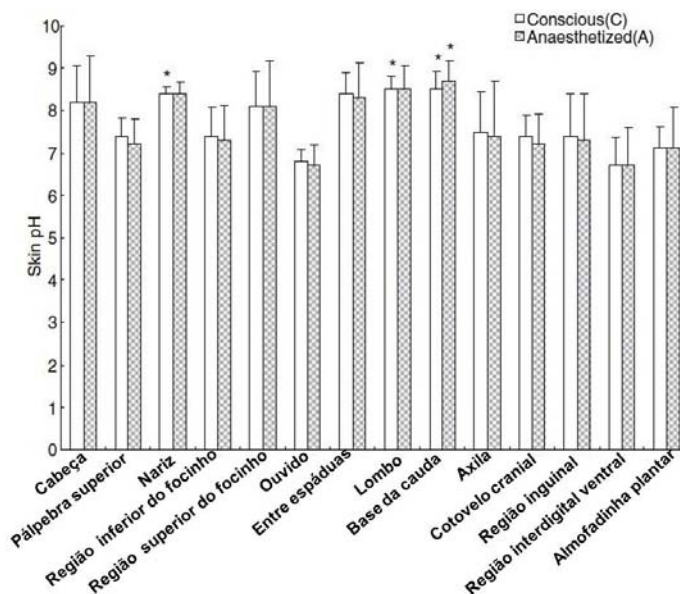
Num estudo realizado por Oh e Oh (2009) em que foram determinados os valores de pH da pele de 5 cães de raça Beagle, machos, entre os 2 e os 4 anos, em 14 regiões corporais diferentes e antes e depois da realização de anestesia, com um medidor de pH de pele pH 900 da Courage & Khazaka (Colónia, Alemanha), os autores concluíram que a pele dos cães era alcalina, embora o pavilhão auricular, a pele interdigital e as almofadinhas plantares tenham tendido para a neutralidade/ligeira acidez. A anestesia revelou-se não afectar o pH da pele (Figura 13).

Os resultados destes estudos foram consistentes com estudos prévios que demonstraram que os canídeos se diferenciavam da maioria das espécies que apresentam tendência para um pH de pele ácido (Tabela 4) (Oh & Oh, 2009).

Estes intervalos de pH resultam provavelmente de uma combinação de factores oriundos das células epidérmicas e glândulas (sebáceas, atriquiais e epitriquiais) que diferem marcadamente entre espécies no tipo e capacidade funcional, e dos sistemas tamponizantes das moléculas ácidas e alcalinas, que mantêm nos mamíferos um pH da pele normal. As secreções das glândulas sudoríparas epitriquiais no cão são baixas, e embora não tendo um papel significativo na termorregulação, foi encontrado representarem um papel importante na elevação do pH da pele. As regiões que, no estudo realizado por Oh e Oh, demonstraram ter um pH mais baixo eram relativamente alopécicas, enquanto as com

maiores valores de pH eram relativamente pilosas, à excepção do nariz. É proposto por estes autores que o suor contribui para a diferença regional nos valores de pH obtidos por eles, devido à abundância de glândulas sudoríparas nas regiões pilosas (Oh & Oh, 2009).

Figura 13: pH da pele, regional, de cães de raça Beagle (utilização de imagem autorizada pelos autores Oh & Oh, 2009).



O nariz, lombo e base da cauda, em cães acordados, mostraram um pH significativamente ($*P < 0.05$) mais alcalino do que em outras regiões do corpo. A base da cauda apresentou um pH significativamente mais alcalino que o ouveido e a pele interdigital nos cães anestesiados ($*P < 0.05$). Não foram encontradas diferenças significativas entre estados anestésicos e não anestésicos. A: Anestesiados; C: Conscientes (Oh & Oh, 2009).

6. FACTORES QUE INFLUENCIAM O pH DA PELE

Num estudo realizado sobre o pH da superfície cutânea de cães, observou-se que: os valores de pH variavam entre diferentes locais da pele e de dia para dia, as fêmeas apresentavam valores de pH mais baixos que os machos, as fêmeas esterilizadas tinham valores de pH significativamente mais elevados que as fêmeas inteiras, os Retriever do Labrador pretos apresentavam maiores valores de pH que os Retriever do Labrador amarelos, e que os Retriever do Labrador e os Schnauzer miniatura eram significativamente diferentes dos Springer Spaniel Ingleses e dos Yorkshire Terrier (Ruedisueli et al., 1998). Foi relatado por Meyer & Neurand (1991) que o pH da superfície cutânea de um cão excitado pode aumentar mais do que 1 num minuto. Os autores propuseram que a elevação pudesse ser devida ao aumento das secreções das glândulas apócrinas, estando esta hipótese de acordo com o estudo efectuado por Roy (citado por Matousek & Campbell, 2002) em que cães com hiperhidrose (apócrina) apresentavam um pH de pele mais alcalino (entre 8.2 e 9.0) que cães saudáveis.

Até aos dias de hoje não se conhecem exactamente todos os mecanismos responsáveis pela regulação do pH da superfície cutânea. No entanto, sabe-se existirem um número de factores endógenos e exógenos que afectam o pH da pele (Tabela 5) (Schmid-Wendtner & Korting, 2007), como por exemplo as secreções sudoríparas e sebáceas, as regiões anatómicas, a humidade, bombas de prótons, predisposições genéticas, a idade (Ansari, 2009), o método utilizado para as medições de pH, a fisiologia geral da pele, o clima ambiental ou a localização geográfica (Matousek, Campbell, Kakoma, & Schaeffer, 2003).

Tabela 5: Factores que no Homem afectam o pH da pele (adaptado de Yosipovitch & Maibach, 1996).

Factores endógenos	Factores exógenos
Humidade da pele Suor Secreções sebáceas Região anatómica Predisposição genética Raça Idade Doença de pele atópica Dermatite irritante Dermatite de fralda Diabetes Urémia	Sabões, detergentes, produtos cosméticos Pensos oclusivos Irritantes Antibióticos tópicos

6.1. Idade

A idade tem vindo a ser implicada como um factor influenciador do pH da pele. Estudos prévios indicam que a pele do Homem sofre um processo de adaptação e maturação no

período pós-natal. No entanto, no Homem, desde a infância até aos 70 anos, o pH parece manter-se relativamente constante, aumentando significativamente após esse período (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

6.1.1. O pH da pele de canídeos de diferentes idades

Num estudo efectuado por Vidal et al. (2009), em que determinaram o pH da pele de 166 cães, de 21 raças diferentes, com idades compreendidas entre 1 e 18 anos, os autores não observaram diferenças relacionadas com a idade nos valores de pH determinados ($P=0.61$).

6.1.2. O pH da pele de bebés humanos

O pH neutro da superfície da pele de bebés humanos foi observado pela primeira vez por Taddei em 1935 (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Duas décadas mais tarde, Behrendt e Green (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) detalharam a cinética do desenvolvimento de um pH superficial ácido ao longo do primeiro mês após o nascimento. Visscher et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) relataram valores relativamente neutros do pH da superfície cutânea de recém-nascidos com uma diminuição para cerca de 5.5 ao longo dos primeiros 4 dias após o nascimento. Estes resultados foram confirmados por Yosipovitch et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), que relataram um valor inicial médio de pH em recém-nascidos elevado, de 7.08, em comparação com um valor de pH médio em adultos de 5.7. Os valores de pH foram significativamente mais baixos no segundo dia, em todas as regiões do corpo, mantendo-se, no entanto, mais elevados que os valores observados nos adultos ($p<0.005$). A causa exacta para o elevado valor de pH de pele em bebés não é conhecida, no entanto, os bebés têm menores quantidades de ácidos gordos livres nos lípidos da epiderme e níveis mais elevados de bicarbonato no suor écrino que os adultos (Matousek & Campbell, 2002).

O desenvolvimento neonatal do gradiente de pH do estrato córneo e os seus mecanismos subjacentes foram exaustivamente investigados por Behne et al. (2003) em experiências com ratos. Estes estudos mostraram que o desenvolvimento da permeabilidade da barreira epidérmica ocorre no fim da gestação estando relacionado com uma expressão aumentada de enzimas dependentes de pH e processadoras de lípidos. Tal como no Homem, o pH do estrato córneo dos ratos recém-nascidos é neutro, desenvolvendo-se o manto ácido logo após o nascimento (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

O mesmo grupo de investigadores demonstrou a importância do antiporte sódio/potássio NHE1 para a acidificação do estrato córneo, mostrando que este antiporte acidificava a interface estrato córneo - estrato granuloso. Os investigadores avaliaram se a acidificação pós-natal atrasada reflectia um atraso paralelo na expressão deste antiporte de protões e descobriram que o NHE1, na fase do nascimento, é já expressado na totalidade com o intuito de influenciar a acidificação. Contudo, a interface estrato córneo - estrato granuloso

não está acidificada na altura do nascimento, mesmo com quantidades adequadas de NHE1, sugerindo que existem factores adicionais que influenciam a acidificação inicial do estrato córneo - estrato granuloso. Em suma, pode ser demonstrado que a epiderme de ratos recém-nascidos está totalmente equipada com ambos os mecanismos de acidificação do estrato córneo, tanto através da actividade do NHE1, como de um mecanismo processador de lípidos, através da β -glucocerebrosidase. As suas experiências demonstraram que a acidificação pós-natal do estrato córneo ocorre de forma análoga à acidificação do estrato córneo de adultos, começando na interface estrato córneo - estrato granuloso e prosseguindo em direcção à superfície do estrato córneo. Além disso, especula-se que a exposição ao ar após o nascimento, possa ser um factor desencadeante dos processos de acidificação, activando o NHE1, de modo a se fornecer o passo inicial para o estabelecimento da acidez do estrato córneo na interface estrato córneo - estrato granuloso (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Fluhr et al. (2004) investigaram também a base para a acidificação pós-natal em ratos recém-nascidos. Eles concluíram que o desenvolvimento do pH ácido da superfície cutânea de neonatos se devia, em parte, a uma acidificação progressiva resultante de dois mecanismos, nomeadamente, ao NHE1 e à $sPLA_2$. A acidificação alterada do estrato córneo neonatal, é então explicada pela relativa baixa actividade de um ou de ambos estes mecanismos no momento do nascimento. Os autores concluíram que a acidificação do pH do estrato córneo em ratos recém-nascidos ocorre nos primeiros 5 a 7 dias e que é mediado, em parte, pelo aumento da actividade e/ou expressão do NHE1 e da $sPLA_2$.

6.2. Raça

Vidal et al. (2009) observaram diferenças significativas relacionadas com a raça em canídeos ($P < 0.001$), tendo verificado que os animais de raça Cocker Spaniel apresentavam os valores de pH mais baixos (5.80) e os animais de raça Pastor Alemão apresentavam os valores de pH mais altos (8.60). Estes autores também observaram que as raças de grande porte e as gigantes apresentavam maiores valores de pH (7.40) que as raças de porte médio e pequeno (6.30 e 6.2 respectivamente).

Também Ruedisueli et al. (1998) detectaram diferenças significativas no pH médio das diferentes raças de canídeos que analisaram: Retriever do Labrador (7.13), Schnauzer Miniatura (7.25), Springer Spaniel (6.65) e Yorkshire Terrier (7.71).

6.3. Regiões anatómicas

Já em 1938 foi descrito que os valores de pH da pele do Homem variavam consoante as regiões anatómicas, tendo sido identificadas “lacunas” no manto ácido em regiões intertriginosas. Esta identificação levou à sugestão de um importante papel do manto ácido na defesa anti-microbiana (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

É hoje reconhecido que o pH da superfície cutânea é relativamente semelhante entre várias regiões anatómicas no Homem. No entanto, sabe-se que zonas com maior humidade como as intertriginosas (a axila, dobras inguinais, interdigitais e região genito-anal) têm o pH ligeiramente mais elevado (Schmid-Wendtner & Korting, 2007; Matousek et al., 2003). Foram também demonstradas diferenças regionais no pH de cães e bovinos (Matousek et al., 2003). Meyer e Neurand (1991) detectaram que as almofadinhas plantares e o focinho, em comparação com as outras regiões estudadas por eles, se apresentavam claramente neutras a tenderem para a alcalinidade. Estes autores sugerem que o pH neutro detectado nas patas de canídeos pode ser causado pelas secreções das glândulas écrinas, que humedecem totalmente a espessa camada córnea, enquanto o pH neutro a alcalino detectado nas zonas naso-labiais, pode ser causado pelas secreções das glândulas écrinas, pelas glândulas nasais ou pela humidificação provocada pela lambedura.

6.4. Género

Foram feitos, até agora, poucos estudos no Homem relacionados com diferenças de pH de pele entre géneros, tendo sido os resultados contraditórios (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Em canídeos, as pesquisas anteriores efectuadas não identificaram associações significativas entre o género e o pH da pele (Matousek & Campbell, 2002).

Ruedisueli et al. (1998), contudo, no estudo que efectuaram em canídeos, detectaram que o pH dos machos era mais elevado que o das fêmeas. Além disso, o pH da pele de fêmeas esterilizadas era mais elevado que o das fêmeas intactas.

Blank (1939), o investigador que introduziu a utilização do eléctrodo de vidro na dermatologia, no estudo que realizou no mesmo ano, detectou que as mulheres apresentavam um pH em média 0,5 mais elevado que os homens tendo associado esse facto ao uso corrente de cosméticos pelas mulheres. Zlotogorski (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), recentemente, não encontrou diferenças relacionadas com o género. Num estudo realizado na Alemanha, Klein et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) encontraram pequenas diferenças entre homens e mulheres com valores ligeiramente mais baixos de pH para os homens. As diferenças, contudo, não foram significativas. Jacobi et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), determinaram o pH da pele e outros parâmetros fisiológicos nos antebraços flexores de 6 mulheres e de 6 homens. Nesta investigação, a pele das mulheres apresentou valores de pH bastante mais altos (5.6 ± 0.4) que a pele dos homens (4.3 ± 0.4 , $p < 0.05$).

Isto contradiz os resultados de outros estudos realizados, por exemplo, por Ehlers et al. (2001), em que as mulheres apresentaram valores mais baixos de pH da superfície da pele. No estudo realizado por estes autores, é apresentada uma diferença estatisticamente significativa entre o pH de pele de homens (pH médio = 5.80) e mulheres (pH médio = 5.54), apresentando-se as mulheres mais ácidas que os homens ($p < 0.01$).

Jacobi et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) especularam que o estatuto hormonal das mulheres poderia também exercer uma influência no pH da superfície da pele, podendo contribuir para os diferentes valores de pH medidos nas mulheres nos diferentes estudos. Esta hipótese não foi, contudo, investigada com maior detalhe.

Esta variação de resultados precisa ser clarificada. Por enquanto, aconselha-se acreditar os estudos de pH de pele com um número igual de indivíduos de ambos os sexos (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

6.5. Ritmo circadiano

Foram feitas até hoje, poucas investigações com base nas variações diárias da superfície cutânea (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Yosipovitch et al. (1998) detectaram a presença de ritmos circadianos no pH da pele do antebraço e queixo, mas não na testa ou costas do Homem. Estes autores analisaram estas alterações focando-se em parâmetros relevantes para a função barreira da pele em 9 homens e 7 mulheres saudáveis. Foi detectado um pH mais elevado durante o início da tarde, e mais baixo durante o fim da tarde e noite no queixo (5.5 a 4.8) e antebraço (5.44 a 4.87), não se detectando alterações significativas na testa (5.29 a 4.93) e costas (5.5 a 5.14).

Le Fur et al. (2001) investigaram os ritmos circadianos da face e antebraço de 80 mulheres de raça branca. Puderam ser detectados ritmos circadianos para a excreção de secreções sebáceas (face), perda de água transepidermica (face e antebraço), temperatura da pele (antebraço), pH (face) e capacitância (antebraço). Detectou-se que o pH da pele era dependente do tempo (ANOVA com $p < 0.03$) apenas na face, com uma diminuição nocturna, aproximadamente às 4 horas da manhã, correspondendo aos resultados do grupo de Yosipovitch (1998). Foi detectado um “plateau” durante o dia. A diferença entre a diminuição nocturna e o “plateau” diurno foi de 5%.

De modo similar, Latreille et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), avaliaram várias propriedades biofísicas cutâneas na face e antebraço de 8 mulheres. As medições foram realizadas cada 4 horas durante um período de 48 horas. Os parâmetros avaliados na face foram o pH da superfície cutânea, as secreções sebáceas, a cor da pele, a perda de água transepidermica, a capacitância e a temperatura da superfície cutânea. Os mesmos parâmetros foram avaliados no antebraço à excepção das secreções sebáceas. As avaliações permitiram aos autores identificar um ciclo que se repetia ao longo do tempo e da mesma forma durante um período de 24 horas, para a capacitância no antebraço e para a secreção de sebo, pH da superfície da pele e cor da pele na face. Os valores de pH da pele realizados na face, às 4 horas da manhã eram significativamente mais baixos do que os realizados às 8 horas da manhã e ao meio dia, o que é concordante com as observações descritas pelos outros 2 estudos citados. Para o antebraço, as variações no pH da superfície da pele não foram significativas.

6.6. Época do ano

As primeiras investigações relativas a variações sazonais nos parâmetros da superfície cutânea foram realizadas há mais de 20 anos (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Elevações na temperatura ambiental e humidade relativa podem conduzir a um aumento da sudação écrina e apócrina. Estes dois tipos de sudação e os seus respectivos efeitos no pH da pele diferem. O suor écrino normal é ácido (4.5 - 6.0) e a pele torna-se mais acídica à medida que o suor evapora (normalmente a amónia evapora rapidamente). À medida que a sudação écrina aumenta, as concentrações de amónia, ácido pirúvico e lactato diminuem, e o pH aumenta. A sudação térmica apócrina tem um pH mais elevado que a sudação écrina, aumentando o pH cutâneo à medida que esta evapora (Matousek & Campbell, 2002).

Abe et al. (citado Matousek & Campbell, 2002), detectaram um efeito sazonal no pH cutâneo. Eles determinaram a temperatura e o pH da pele, a perda de água evaporativa e os valores lipídicos da superfície cutânea do antebraço de 24 adultos saudáveis japoneses em 4 diferentes períodos ao longo de um ano. Eles descobriram que a perda de água evaporativa e os valores lipídicos totais em Julho eram aproximadamente o dobro ou o triplo dos valores registados em Janeiro. Por outro lado, o pH da pele era significativamente mais baixo em Julho quando comparado com Janeiro, Abril ou Outubro. Além disso, foram encontradas correlações inversas significativas entre os valores de pH da pele, temperatura da pele e perda de água evaporativa. Os autores especularam que a descida do pH da pele no verão poderia ser devida à secreção sudorípara estimulada pela temperatura da pele (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

6.7. Humidade da pele, suor e secreções sebáceas

As secreções sebáceas da pele têm um efeito moderado no pH a ser medido. O efeito depende da quantidade de secreção. Por exemplo, uma elevada presença de sebo na testa de um paciente humano com acne vulgaris pode afectar a medição de pH. O pH da pele também depende da humidade da pele: áreas com elevados níveis de humidade, como as regiões axilares e inguinais no Homem, têm um pH mais elevado. Em certos relatos, são detectadas diferenças no pH do suor de acordo com a intensidade. Até aos dias de hoje, não há confirmação de que o suor térmico, o suor que cobre o corpo e o suor das glândulas écrinas seja realmente mais ácido que o suor proveniente do esforço, das regiões da pele expostas ao ar e das glândulas apócrinas (Schmid-Wendtner & Korting, 2006).

6.8. Pigmentação da pele

Reed et al., em 1995, num pequeno estudo que realizaram no Homem, demonstraram que o tipo de pigmentação da pele (não a etnia), determinava diferenças na função barreira e na coesão do estrato córneo. De modo a determinar se o tipo de pigmentação influenciava a

função da epiderme, Gunathilake et al. (2009) muito recentemente, estudaram o pH do estrato córneo, a homeostase da permeabilidade da barreira e a integridade do estrato córneo em 3 populações geograficamente distintas com pigmentação de pele do tipo I-II *versus* IV-V (escala de I a VI de Fitzpatrick, sendo o I referente a uma tonalidade de pele muito clara e o VI a uma tonalidade de pele muito escura). Os autores detectaram que os indivíduos de tipo IV-V apresentavam menor pH da pele, uma integridade do estrato córneo aumentada e um mais rápido restabelecimento da barreira que indivíduos de tipo I-II. Para além disso, os autores descobriram que as dendrites dos melanócitos dos indivíduos do tipo IV-V eram mais ácidas que as dos indivíduos do tipo I-II, e que transferiam mais melanossomas para o estrato córneo, sugerindo que a secreção de melanossomas poderia contribuir para um pH mais ácido da pele do tipo IV-V.

Para além dos factores endógenos discutidos, existe um grande número de factores exógenos que, sabe-se afectarem o pH da superfície cutânea. Os mais importantes são o uso de sabões e detergentes, outros produtos para a pele e pensos oclusivos (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

6.9. Hábitos de limpeza de pele

A simples lavagem da pele com água imediatamente produz um aumento transitório no pH da pele, e a lavagem das mãos com um sabão normal provoca um aumento no pH de uma média de 3 (Rippke et al., 2002).

6.10. Pensos oclusivos

Desde os anos 70 que são conhecidos os efeitos dos pensos oclusivos no pH da pele. Após 5 dias de tratamento oclusivo no antebraço do Homem saudável, Aly et al. (1978) detectaram que a microbiota bacteriana da pele havia aumentado drasticamente, bem como o pH (de 4.38 para 7.05). Goodman (citado por Matousek & Campbell, 2002) sugeriu que a oclusão de regiões de pele não permite uma evaporação apropriada da perspiração écrina, levando assim a um aumento do pH de pele.

6.11. Métodos utilizados para as medições de pH

Sabe-se hoje existirem um número de factores exógenos que afectam o pH da pele (Schmid-Wendtner & Korting, 2007), sendo o método utilizado para as medições de pH um deles (Matousek et al., 2003). Ehlers et al. (2001) efectuaram um estudo com o objectivo de revelarem as diferenças nos valores de pH de pele medidos, entre 2 medidores de pH disponíveis comercialmente, o Metler Toledo 1140 e o Courage & Khazaka pH900. O estudo revelou uma diferença estatisticamente significativa entre os 2 aparelhos, podendo dever-se às diferenças nos eléctrodos, aos diferentes tempos de estabilização, às diferenças na

sensibilidade à temperatura ou a uma combinação destes 3 factores. Na realidade, os medidores de pH precisam de uma média de 15 segundos para revelarem um valor de pH. O pH900 dá um valor em 3 segundos, o que pode resultar em valores demasiado elevados por o instrumento não ter atingido ainda um nível de estabilidade. Os autores sugerem ser preferível um medidor de pH de pele sem um período fixo de estabilização, como o 1140, recomendando que se deva deixar o medidor de pH estabilizar por pelo menos 7 segundos antes de ser lido o resultado.

7. pH DA PELE E MICROBIOTA CUTÂNEA

Em 1892, Heuss investigou a acidez da superfície cutânea do Homem. Ele relatou que “Toda a pele de indivíduos saudáveis demonstra uma reacção acídica, embora o grau de acidez varie com o local envolvido na medição”. O conceito de defesa contra microrganismos devido à acidez da superfície da pele foi elaborado nos anos 20 e 30 do último século por Schade, Marchionini e Hausknecht et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Num artigo publicado pelos autores em 1928, estes concluem que o suor deixava um resíduo com uma elevada concentração em ácido. Eles expressaram que, “em condições fisiológicas normais, o integumento do Homem é coberto por uma camada muito fina de ácido, que constitui, um “manto ácido”. Este fenómeno está intimamente relacionado com o que se considera como a função fisiológica mais importante do manto ácido da pele humana, a defesa contra microrganismos ambientais (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). A microbiota normal da pele apresenta crescimentos favoráveis em presença de um pH ácido, enquanto bactérias patogénicas como o *Staphylococcus aureus*, apresentam crescimentos favoráveis em presença de um pH neutro. Um pH de pele mais ácido ajuda, portanto, na protecção contra a colonização por bactérias patogénicas, uma vez que a maioria sobrevive num intervalo estreito de pH, próximo do neutro (Ansari, 2009). A defesa contra microrganismos é, no entanto, favorecida não só pela acidez da pele, mas também pela acção das secreções sebáceas e pelo processo de descamação contínuo (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

7.1. A microbiota cutânea

A microbiota cutânea normal também contribui para a defesa da pele. Bactérias e ocasionalmente, leveduras e fungos filamentosos localizam-se normalmente na superfície cutânea. Esta microbiota é composta de bactérias que vivem em simbiose e que podem sofrer alterações com mudanças de vários factores do ambiente cutâneo como o pH, a salinidade, a humidade, o nível de albumina e o nível de ácidos gordos. É esta estreita relação entre hospedeiro e microrganismos que permite que as bactérias ocupem os nichos microbianos inibindo a colonização de organismos invasores (Muller et al., 2001). Algumas bactérias residentes, para além de prevenirem a colonização por bactérias patogénicas, desempenham também um papel activo na manutenção do pH ácido da pele (Ansari, 2009).

7.2. Microrganismos residentes, temporários e transitórios da pele

Desde a segunda metade dos anos 60 que se tem investigado, mais detalhadamente, o ecossistema da microbiota da pele do Homem, considerando-se o conceito de microrganismos residentes, residentes temporários e transitórios (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). São considerados residentes os organismos que vivem e se multiplicam na

pele, fazendo parte de uma população permanente, podendo existir em números reduzidos e não sendo eliminados por métodos desinfectantes. Esta microbiota residente não se encontra dispersa de forma uniforme pela superfície, estando agregada em micro-colónias de variadas dimensões (Muller et al., 2001). Ao contrário da microbiota residente, os residentes transitórios e temporários são vistos apenas na camada superior dos corneócitos, estão presentes em baixas contagens e apenas por curtos períodos de tempo (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Os transitórios são meros contaminantes adquiridos do ambiente, que podem ser removidos por simples medidas higiénicas (Muller et al., 2001). Os microrganismos residentes temporários ou nómadas, cujo comportamento se situa entre o dos residentes e o dos transitórios, por sua vez, aproveitam-se das alterações que ocorrem no microambiente da superfície cutânea, estabelecendo-se e proliferando tanto à superfície como mais profundamente. Nos cães, a maioria dos estudos indica que *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase-negativos, *Streptococcus* β -hemolíticos e *Acinetobacter* spp. são residentes normais da pele. *Staphylococcus* coagulase-negativos e coagulase-positivos (especialmente *Staphylococcus epidermidis*, *S. xylois* e *S. intermedius*) são com regularidade isolados da pele e pêlo de cães saudáveis. As regiões muco-cutâneas anal, nasal e oral, são também locais importantes de presença de *Staphylococcus intermedius*. Também pode ser encontrada *Propionibacterium acnes* na superfície cutânea e nos folículos pilosos de cães em número suficiente para ser considerada parte da microbiota normal canina. Além disso, muitos fungos saprófitas, incluindo a *Malassezia pachydermatis*, *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., e *Penicillium* spp., podem ser cultivados a partir da pele e pêlo de cães e gatos saudáveis (Muller et al., 2001).

Estudos recentes indicaram, no entanto, que famílias fenotipicamente identificadas de *Staphylococcus intermedius* podem incluir, para além de verdadeiras famílias de *S. intermedius*, também novas espécies de estafilococos coagulase-positivos como o *Staphylococcus pseudintermedius* e o *Staphylococcus delphini*. De facto, a maioria foi identificada como *Staphylococcus pseudintermedius* e não *Staphylococcus intermedius* (Kawakami, Shibata, Murayama, Nagata, Nishifuji, Iwasaki, Fukata, 2010). Este *Staphylococcus pseudintermedius*, foi considerado o *Staphylococcus* sp. predominante em cães (Hanselman, Kruth, Rousseau, & Weese, 2009), fazendo parte da normal microbiota dos cães, podendo também ocorrer como um patogénico oportunista, tendo sido considerado como o mais frequentemente detectado nas infeções de pele e ouvido (Norström, Sunde, Tharalds, Mørk, Bergsjø, & Kruse, 2009).

7.3. O papel protector do pH ácido da pele

O pH da superfície cutânea normal tem um papel benéfico no que concerne à microbiota da pele (Tabela 6). Um pH de pele entre os 4.0 e os 4.5 ajuda a microbiota bacteriana residente a manter-se na pele, prevenindo a invasão cutânea por microrganismos patogénicos,

enquanto um pH alcalino entre os 8.0 e os 9.0 promove a dispersão das bactérias. Os ácidos produzidos pelas bactérias também contribuem para os mecanismos protectores locais. Por exemplo, *Staphylococcus epidermidis* e *Propionibacterium acnes* produzem lipases e esterases que lisam os triglicéridos em ácidos gordos livres, levando a uma diminuição do pH da superfície cutânea e por isso criando um ambiente desfavorável a agentes patogénicos da pele. O pH ácido da pele também facilita a produção de péptidos antimicrobianos naturais, presentes na cicatrização de feridas (Ansari, 2009). Ainda não está estabelecido o pH cutâneo ideal necessário à redução da sobrevivência dos microrganismos, variando provavelmente esse pH ideal com o organismo alvo em questão. No geral, foi determinado que um pH<5 previne o crescimento bacteriano. Por exemplo, um pH<4.5 inibe o crescimento da maioria das *Pseudomonas spp.*. De igual modo, o crescimento de *Malassezia spp.* tende a ser inibido a um pH<4.0 (Matousek et al., 2003).

Tabela 6: Efeitos do pH na microbiota da pele (adaptado de Ansari, 2009).

Efeitos	Referência
pH ácido (4-4.5) mantém a microbiota residente na pele	Lambers, Pessens, Bloem, Pronk, & Finkel, 2006
pH alcalino (8,9) promove a dispersão das bactérias da pele	
pH menos ácido promove o crescimento bacteriano, especialmente bactérias gram-negativas e <i>Propionibacteria</i>	Aly, Shirley, Cunico, & Maibach, 1978; Kortling et al., 1990
Infecção de pele por <i>Candida</i> mais inflamatória quando estrato córneo tamponizado a pH 6.0 versus 4.5, indicando que o pH pode mediar reacções imunes a infecções	Runeman, Faergemann, & Larkö, 2000
pH elevado na axila promove elevado crescimento bacteriano e mau odor	Stenzaly-Achtert et al., 2000
pH ácido acelera a actividade de lípidos e péptidos antibacterianos	Chikakane & Takahashi, 1995; Chen et al., 2005; Braff et al., 2005; Goodarzi et al., 2007
pH ácido facilita a produção de péptidos antimicrobianos, a cicatrização de feridas e regula processos de queratinização e descamação	Öhman e Vahlquist, 1994; Mauro, et al., 1998; Arikawa et al., 2002; Fore-Pfliger, 2004; Chen et al., 2005

7.4. Efeitos do pH no crescimento de *Malassezia pachydermatis* de origem canina

É importante realçar que condições ligeiramente acídicas (pH 4.0 a 6.0) favorecem o crescimento de leveduras. Então, de modo a se poder avaliar o potencial uso de produtos que diminuem o pH cutâneo para o tratamento de doenças fúngicas, Matousek et al. (2003) determinaram os níveis de pH que inibiam de forma óptima o crescimento destes microrganismos fúngicos. Os autores não detectaram qualquer crescimento de leveduras a pH 1.0 a 1.3 e a pH 9.0 a 10.0. Os resultados deste estudo apoiaram a hipótese de ambientes acídicos inibirem o crescimento de leveduras, uma vez que os autores

detectaram que era necessário um $\text{pH} < 4$ para que ocorresse inibição do crescimento de *M. pachydermatis in vitro*. Os resultados deste estudo sugerem que produtos tópicos acidificantes podem ser terapêuticas benéficas para infecções por leveduras nos cães. Os níveis de pH alcalinos de 9.0 e 10.0 também inibiram o crescimento de leveduras, no entanto, a alcalinização da pele pode resultar em efeitos secundários intoleráveis. O aumento da alcalinidade da pele humana tem sido associada a irritação, aumento da perda de água transepidérmica e aumento das contagens bacterianas.

7.5. Efeito de produtos na microbiota e pH da pele

Hartmann et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) examinaram o efeito de lavagens repetidas na microbiota bacteriana da pele, em particular nos *Staphylococcus* e *Propionibacteria*. Este grupo concluiu que o ecossistema da microbiota da pele humana residente é muito resistente a factores externos. O banho uma vez por dia durante 3 semanas ou a anulação da lavagem dos antebraços durante o mesmo período de tempo não levou nem a um sobrecrecimento dos transitórios, nem a uma mudança significativa na composição dos microrganismos residentes. Esta grande estabilidade da microbiota da pele tem sido descrita como “resistência do hospedeiro” e é inquestionavelmente associada, entre outros, ao pH fisiológico da pele, à humidade da pele, à composição lipídica da pele, à descamação do estrato córneo e à temperatura da pele.

Até à segunda metade dos anos 80 do último século, as poucas investigações realizadas, que pesquisavam o efeito das lavagens na microbiota bacteriana da pele tinham sido realizadas sem tomarem especial consideração pelo pH (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Parecia, portanto, interessante investigar com mais atenção esta relação. Por esta razão, foram realizados estudos envolvendo o uso repetido de produtos de limpeza alcalinos, neutros ou ácidos durante um longo período de tempo, sob condições bem definidas, focalizando-se tanto o pH da superfície cutânea como a microbiota residente (Korting, Hübner, Greiner, Hamm, & Braun-Falco, 1990). Os autores concluíram que (i) lavagens repetidas tanto com sabão como com detergentes sintéticos ácidos resultavam em alterações no pH da pele a longo prazo e que (ii) diferentes espécies bacterianas, constituintes da microbiota residente, podiam, a longo prazo, ser influenciadas pelo tipo de produto de limpeza utilizado para a pele (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Para que tivessem uma visão mais clara sobre o problema da microbiota cutânea e o pH da pele, o mesmo grupo realizou um ensaio similar em que usou detergentes sintéticos quimicamente idênticos à excepção do pH, que era de 7.0 ou 5.5. As preparações de limpeza de pele eram aplicadas duas vezes por dia na testa e no antebraço de 10 voluntários humanos saudáveis num ensaio aleatório. Após 4 semanas de limpeza de pele com um dos dois produtos, a preparação não aplicada até então era usada por mais 4 semanas. No intervalo das aplicações (após 4 semanas de limpeza de pele), tanto o pH da

superfície cutânea como a microbiota eram analisados (Korting et al., 1990). Uma vez mais, os resultados sugeriram que mesmo pequenas alterações no pH da superfície cutânea influenciavam acentuadamente a microbiota residente, em particular a *Propionibacteria*. Os resultados do estudo demonstraram claramente que o pH, por si só, e não os componentes do produto de limpeza, tinha maiores implicações para a microecologia cutânea (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Neste contexto, foi de maior interesse saber se não só voluntários saudáveis mas também pacientes humanos com doenças de pele, poderiam beneficiar de lavagens com detergentes sintéticos acídicos. Korting et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), por exemplo, investigaram a influência do uso regular de sabões ou de detergentes sintéticos acídicos em pacientes propensos ao acne. De modo detalhado, no grupo que usou o sabão, o número de lesões inflamatórias aumentou de 14.6 (± 5.3) para 15.3 (± 6.0), enquanto no grupo que usou detergentes sintéticos acídicos as lesões inflamatórias diminuíram de 13.4 (± 5.2) para 10.4 (± 5.8). Com base nos resultados acima descritos, os autores concluíram que os produtos de limpeza acídicos devem ser preferidos para os cuidados da pele em adolescentes propensos a acne e em jovens adultos humanos.

8. O pH DA PELE NAS DOENÇAS

O pH da pele proporciona uma imagem do estado hídrico da pele uma vez que pode alterar-se consideravelmente em situações patológicas (Oh & Oh, 2009). Algumas doenças estão associadas a um aumento do pH da pele (dermatite atópica e seborreica), sendo outras exacerbadas por elevações nos valores de pH (dermatite de contacto, *acne vulgaris*) (Matousek & Campbell, 2002). Estudos clínicos e experimentais no Homem investigaram não só o papel do pH de pele e o seu significado para a função barreira da pele, mas também para a patogénese de várias dermatoses (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Em muitas das doenças, a patogénese da alcalinização não é clara; no entanto, um pH mais elevado predispõe a pele a infecção secundária (Matousek & Campbell, 2002). Um aumento na alcalinidade da pele foi demonstrado em cães com dermatite seborreica (Matousek et al., 2003).

8.1. Doenças Sistémicas

As doenças sistémicas que no Homem podem causar um aumento no pH da superfície cutânea incluem a Diabetes Mellitus, insuficiência renal crónica e doenças cerebrovasculares. A explicação para a elevação do pH nestas doenças não é clara, no entanto, poderá estar relacionada com baixos níveis de fosfolipases e a disfunção autonómica causando uma anormal secreção sebácea (Yosipovitch & Hu, 2003).

O prurido e a pele seca são dos sintomas mais prevalentes em pacientes humanos urémicos, sendo a patogenia do prurido nestes pacientes desconhecida. Foi sugerido por Scoggins em 1967 (citado por Yosipovitch et al., 1993) que alterações no pH da pele poderiam estar na origem dos factores etiológicos do prurido nos pacientes humanos urémicos. Por não haver estudos publicados relativos ao pH da superfície cutânea em pacientes urémicos, Yosipovitch et al. (1993) investigaram o pH da pele de 41 pacientes urémicos antes e depois da realização de hemodiálise. Este estudo mostrou aumentos significativos no pH da pele de pacientes em diálise. O pH da superfície cutânea revelou-se mais elevado nos pacientes que nos controlos na parte superior das costas (5.54 ± 0.14 vs 5.22 ± 0.08 , $p < 0.02$), no antebraço (5.5 ± 0.1 vs 5.13 ± 0.1 , $p < 0.01$) e na testa (5.35 ± 0.08 vs 5.04 ± 0.07 , $p < 0.004$), não se tendo registado diferenças na axila. A hemodiálise não provocou qualquer efeito nos valores de pH registados previamente. Os autores sugerem que o estado urémico pode afectar a capacidade de secreção ácida por parte das células dérmicas, tornando a pele mais susceptível a infecções fúngicas ou bacterianas. Os autores sugerem também que poderá ocorrer uma menor excreção de lactato e por isso menor presença deste no suor destes pacientes, levando a um pH da pele mais elevado. Outra sugestão dos autores é o estado urémico influenciar os antiportes sódio/hidrogénio nos ductos das glândulas sudoríparas, levando a uma menor secreção de hidrogénio. Kaiser e

Drack (citado por Yosipovitch et al., 1993) sugeriram que os ductos das glândulas sudoríparas acidificam o suor reabsorvendo o bicarbonato e/ou secretando hidrogénio em troca de sódio.

Num estudo novamente realizado por Yosipovitch et al. (2007), os autores relataram mais uma vez um aumento do pH da superfície da pele de pacientes humanos com IRC, em comparação com os controlos. No entanto, os autores consideram estes resultados pouco relevantes, por não terem atingido uma significância estatística. Com estes resultados, os autores concluem que, uma vez que um aumento do pH da pele conduz a uma activação das serina proteases, e por essa activação resultar numa anormal função da barreira e integridade do estrato córneo, este facto poderá explicar a elevada prevalência de pele seca nos pacientes humanos com IRC.

8.2. Doenças dermatológicas

8.2.1. Dermate atópica no Homem

São vários os factores patogénicos e terapêuticos na dermatite atópica que podem ser afectados por alterações no pH da superfície cutânea. Há 50 anos foi obtida a primeira evidência relativamente a alterações do pH da pele e da sua capacidade tampão em pacientes com dermatite atópica (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Epprecht (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) investigou pacientes humanos com dermatite aguda disseminada e descreveu valores elevados de pH da superfície cutânea, bem como neutralização alcalina retardada. Dez anos mais tarde, Locher (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) relatou valores de pH 0.5 mais elevados em pacientes com dermatite atópica, quando comparados com controlos com uma pele saudável. Estes dados têm sido sistematicamente confirmados por numerosos estudos (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). É feita uma revisão destes estudos na Tabela 7.

Num estudo com 100 crianças com dermatite atópica, com idades compreendidas entre os 3 e os 12 anos, Seidrani e Giusti (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) mostraram que os valores de pH observados, tanto nas áreas de pele eczematosas, como nas áreas clinicamente normais, eram significativamente mais elevados do que nas 21 crianças saudáveis. Para além disso, os valores de pH nas áreas afectadas eram significativamente mais elevados que nas áreas não afectadas, que por sua vez eram significativamente mais elevados em pacientes com sinais clínicos quando comparados com pacientes em intervalo assintomático. Estes resultados foram corroborados por Sparavigna et al. (1999), que compararam o pH cutâneo de 143 crianças com dermatite atópica e 141 crianças saudáveis, com idades entre os 3 meses e os 11 anos. Eles relataram uma diminuição progressiva nos valores de pH de áreas de pele lesionais para peri-lesionais, para não afectadas, e para áreas de pele correspondentes de crianças saudáveis. Eles também relataram uma relação entre valores de pH de pele mais elevados e uma maior intensidade de prurido, em

pacientes com dermatite atópica. O trabalho dos grupos de pesquisa italianos foi confirmado recentemente pelo grupo de Eberlein-König (2000). Estes avaliaram o pH da pele, a hidratação do estrato córneo, a perda de água transepidérmica e a aspereza da pele em 377 crianças com idades compreendidas entre os 8 e os 9 anos. Apenas o pH da pele foi significativamente afectado, apresentando as 45 crianças com dermatite atópica valores médios mais elevados do que as crianças saudáveis (5.32 ± 0.43 contra 5.12 ± 0.43). Mais uma vez, foi confirmada uma tendência significativa para a alcalinidade da pele não lesionada nas crianças com dermatite atópica quando comparada com pele saudável. Para além disso, os autores relataram uma relação entre o aumento dos valores de pH e a pele seca.

Tabela 7: Revisão dos estudos importantes realizados em pacientes humanos com dermatite atópica que focaram a avaliação do pH de pele (adaptado de Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Estudo	Painel	n	Idade	Valor de pH no antebraço
Sparavigna et al., 1999	Pele saudável	141	3 meses – 11 anos	5.36 ± 0.50
	Dermatite Atópica:	143		5.52 ± 0.64
	Pele não lesional			5.92 ± 0.74
	Pele peri-lesional			5.90 ± 0.76
Eberlein-König et al., 2000	Pele saudável	332	8 – 9 anos	5.12 ± 0.43
	Dermatite Atópica	45		5.32 ± 0.43
Seidenari e Giusti, 1995	Pele saudável	21	3 – 12 anos	4.86 ± 0.45
	Dermatite Atópica:	100		5.23 ± 0.74
	Pele não lesional			5.54 ± 0.63
Rügemer et al., 2001	Pele saudável	31	4 anos	5.37 ± 0.67
	Dermatite Atópica:	70	4.7 anos	5.04 ± 0.42
	Pele não lesional			5.58 ± 0.65
	Pele lesional			

O'goshi et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) conduziram uma série de medições biofísicas focalizadas na função barreira de água, no estado de hidratação da superfície cutânea, nos lípidos da superfície cutânea e no pH da pele de diferentes locais afectados na dermatite atópica crónica. Quando comparados com voluntários saudáveis, os pacientes com dermatite atópica revelaram um aumento uniforme dos valores de pH tanto na pele lesional, como na não-lesional, independentemente das regiões. Os autores concluíram então que, os parâmetros anormais do estrato córneo, obtidos mesmo da pele não-lesional de pacientes com dermatite atópica, podem reflectir a gravidade de alterações inflamatórias subclínicas adjacentes.

Lee et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) investigaram factores associados ao desenvolvimento de prurido, com o objectivo de encontrar parâmetros clínicos objectivos

que fossem úteis como marcadores biológicos para a intensidade do prurido em pacientes com dermatite atópica. A gravidade da doença era medida através do índice SCORAD e foram determinadas as β -endorfinas e o péptido intestinal vasoactivo séricos através de radioimunoensaio. O pH da pele médio \pm DP revelou-se menos ácido ($p < 0.01$) em pacientes com dermatite atópica (5.58 ± 0.63) quando comparado com os controlos normais (4.92 ± 0.48). As beta-endorfinas e as IgE revelaram-se também aumentadas nos pacientes com dermatite atópica, quando comparadas com os controlos. Eles concluíram que tanto as beta-endorfinas como as IgE são bons biomarcadores para o prurido e para a gravidade da doença em pacientes com dermatite atópica, enquanto o pH da superfície cutânea é um bom biomarcador para a intensidade do prurido.

Para além da exudação serosa das zonas extremamente afectadas da pele de pacientes com dermatite atópica, existem outros factores envolvidos nas alterações do pH (Tabela 8).

Tabela 8: Factores possivelmente envolvidos nas alterações do pH da pele atópica (adaptado de Rippke, Schreiner, Doering, & Maibach, 2004).

Factor	Função para o meio ácido	Status na dermatite atópica
Secreção sebácea, maturação lipídica do estrato córneo	Fonte de ácidos gordos livres	Possivelmente reduzida
Secreção sudorípara	Fonte de aminoácidos, ácido láctico, protões	Reduzida
Formação e/ou degradação de filagrina	Fonte de aminoácidos, ácido urocânico	Reduzida
Secreção de corpos lamelares	Fonte de protões	Alterada

O papel dos ácidos gordos livres nas alterações do pH da pele atópica mantém-se inconclusivo. Rajka (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) muito cedo relatou uma redução absoluta dos ácidos gordos livres na superfície cutânea, induzida por uma estase na secreção sebácea de pacientes com dermatite atópica. Em oposição a isto, em investigações realizadas mais tarde (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), foi relatado um aumento de 6 vezes na concentração de ácidos gordos livres nos lípidos da superfície cutânea de pacientes com dermatite atópica, quando comparados com pacientes com acne. Isto pode ser explicado por um aumento na lipólise microbiana de glicérides, apesar da reduzida secreção das glândulas sebáceas, na dermatite atópica. Pensa-se, contudo, que os ácidos gordos livres provenientes dos fosfolípidos desempenham um papel importante na manutenção da acidificação do estrato córneo. Na dermatite atópica, têm sido repetidamente relatados significativos défices de ácidos gordos livres nos lípidos do estrato córneo; no entanto, o conteúdo em fosfolípidos da epiderme atópica bem como a actividade da FLA₂ têm sido relatados como sendo 2 vezes mais elevados em peles atópicas quando

comparadas com a pele saudável, não podendo por isso ser razão para a deficiência dos ácidos gordos livres nos lípidos do estrato córneo (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Hara et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) relataram recentemente um aumento de 3 a 5 vezes na esfingomielina deacilase, responsável pela libertação de ácidos gordos da esfingomielina e das glucosilceramidas, em pacientes com dermatite atópica. O mesmo grupo, contudo, encontrou uma diminuição significativa na actividade da ceramidase ácida, que hidroliza ceramidas em esfingosina e em ácidos gordos livres.

A primeira vez que foi relatada uma marcada redução nos aminoácidos livres de extractos de estrato córneo de pele não afectada, foi há cerca de 30 anos, tendo sido esta redução ainda mais pronunciada no estrato córneo de pele afectada (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Isto foi mais tarde confirmado tanto para a xerose atópica como para a dermatite atópica (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Existem duas explicações possíveis para a deficiência em aminoácidos: primeiro, pode dever-se a uma significativa redução da proteína epidérmica filagrina, que é formada como o mais importante precursor de aminoácidos livres do estrato córneo durante a diferenciação queratinocítica; segundo, devido a uma reduzida secreção sudorípara na dermatite atópica. Em pacientes com dermatite atópica, a secreção sudorípara está reduzida em 50 a 60% em comparação com pessoas saudáveis (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Um sistema de trocas de Na^+/H^+ está envolvido na acidificação do suor. Reduções *in vitro* nas concentrações de sódio do meio levaram a marcadas diminuições do pH intracelular. Foram relatadas relações significativas *in vivo* entre o suor (concentração em Na^+) e o pH no Homem saudável, bem como concentrações electrolíticas do suor alteradas, com elevados níveis de sódio, em crianças com dermatite atópica. Estes factos sugerem uma alteração da acidificação do suor em pacientes com dermatite atópica (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Por último, o processo de exocitose dos corpos lamelares na interface estrato córneo - estrato granuloso foi relatado como sendo outra fonte de protões para a acidificação do estrato córneo. Fartasch e Diepgen (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) puderam mostrar que nos pacientes com dermatite atópica ocorria uma secreção atrasada e incompleta de corpos lamelares para a matriz intercelular.

Num estudo recente, realizado em murinos, Hatano et al. (2009), através do uso de poli-hidróxi-ácido e ácido lactobiónico, prolongaram uma diminuição do pH do estrato córneo com o intuito de descobrir se esta acidificação poderia prevenir a ocorrência ou mesmo reverter a dermatite atópica induzida por oxazolona (Ox-AD). Ao contrário do que foi detectado para a dermatite irritativa de contacto, a manutenção de um pH ácido preveniu a ocorrência de Ox-AD, bem como a emergência das anomalias macroscópicas e funcionais inerentes à patologia. Os autores extrapolam os resultados para pacientes humanos,

sugerindo que a manutenção de um pH ácido do estrato córneo destes pacientes poderá prevenir a ocorrência de dermatite atópica.

8.2.2. Infecções fúngicas em determinadas populações de pacientes

Há cerca de 15 anos suspeitou-se haver relação entre o pH da superfície cutânea e várias infecções fúngicas. Chikakane et al. (1995), por exemplo, observaram valores de pH da superfície cutânea mais elevados em pacientes com infecções fúngicas entre os dedos dos pés. As infecções por leveduras parecem ser um problema em determinadas populações de pacientes. Neste contexto, Yosipovitch et al. (1993) conduziram uma investigação de modo a comparar o pH da superfície cutânea e a humidade de zonas intertriginosas de pacientes diabéticos com indivíduos saudáveis, de modo a estudar a relação entre estes parâmetros e as infecções por *Candida*. O pH da pele das regiões inguinal e axilar era significativamente mais elevado em pacientes diabéticos quando comparado com indivíduos saudáveis ($p < 0.0001$); no entanto, não foram encontradas diferenças no antebraço. Na região inframamária, as mulheres diabéticas apresentavam um pH significativamente mais elevado que as mulheres não diabéticas ($p < 0.01$), no entanto, não foram encontradas diferenças entre homens nesta região. Seis dos 50 pacientes com diabetes mellitus não-insulino dependente (DMNID) (12%) tinham infecções por *Candida* nas regiões intertriginosas. Os autores especularam, portanto, que um valor de pH de pele elevado pode ser um possível factor favorecedor de susceptibilidade para a infecção cutânea por *Candida*.

No seu livro, Odds (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) faz uma revisão sobre o efeito do pH no crescimento de *Candida* e sugere que o pH, por si só, afecta muito pouco provavelmente a taxa de crescimento ou de sobrevivência da *Candida albicans*. Contudo, ele especula que o pH pode afectar a morfologia da *Candida albicans*, podendo isto afectar a capacidade do fungo para aderir e invadir o hospedeiro. De acordo com Buffo et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007), é a hifa que inicialmente invade os tecidos, ocorrendo o seu crescimento a um pH óptimo > 6.5 . Têm sido dadas várias explicações possíveis para os elevados valores de pH nas zonas intertriginosas dos pacientes diabéticos. A primeira prende-se com o facto de existirem muitas glândulas sudoríparas nas regiões intertriginosas, principalmente apócrinas, inervadas por nervos simpáticos. Por essa razão, uma elevada humidade cutânea pode aumentar o pH da superfície da pele como foi sugerido por Aly et al. (1978) há 30 anos atrás. Contudo, Yosipovitch et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) não puderam demonstrar qualquer correlação entre a humidade da pele e o pH da superfície cutânea em pacientes diabéticos.

Foi recentemente investigada por Runeman et al. (2000) a relação entre a infecção por *Candida albicans* e o pH da superfície cutânea. A colocação de suspensões de *Candida albicans* nos antebraços esquerdo e direito, tamponizadas a 2 níveis diferentes de pH (6.0 e 4.5), resultou em lesões após 24 horas uni ou bilaterais em 14 dos 15 voluntários. O pH da

superfície cutânea resultante foi de 5.7 ± 0.3 e 5.1 ± 0.2 , respectivamente. Nos indivíduos que reagiram, as lesões eram mais pronunciadas no braço com o pH mais elevado. Em 11 pacientes ocorreram reacções apenas no braço com pH mais elevado. Os autores especularam que os resultados, dependentes de pH, não se deviam à inibição do crescimento da *Candida albicans*, mas à capacidade de virulência das leveduras dependente de pH, e/ou a uma modulação da capacidade de defesa do hospedeiro.

8.2.3. Infecções bacterianas em determinadas populações de pacientes

Pacientes em cuidados intensivos encontram-se em maior risco de falências orgânicas. Além disso, é cada vez mais evidente que parâmetros da função cutânea são importantes, tanto para o equilíbrio hidrolítico, como para a manutenção da função barreira que influencia a colonização bacteriana da pele. Contudo, até hoje ainda não são claras as alterações que ocorrem no pH da pele durante os cuidados intensivos e se podem ser tiradas quaisquer conclusões a nível de prognóstico (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Foi por esta razão que Fisher et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) conduziram um estudo piloto, de modo a investigar estes parâmetros nestas populações de pacientes. Não foram encontradas alterações significativas relativamente ao pH nem na altura da admissão, nem durante todo o curso de cuidados intensivos. No entanto, os valores médios de pH mostraram que pacientes que desenvolveram um síndrome de resposta inflamatória sistémica (SRIS) ou sepsis apresentavam valores de pH mais elevados durante todo o estudo quando comparados com os controlos. Os autores concluíram que uma colonização cutânea por agentes patogénicos, promovida por alterações nos parâmetros da função barreira, pode ser importante para subgrupos de pacientes sob cuidados intensivos.

9. INFLUÊNCIA DE PRODUTOS TÓPICOS NO pH DA PELE E SUAS CONSEQUÊNCIAS

O pH da superfície cutânea é afectado de modo significativo por numerosos factores externos; é por isso importante conhecer esses factores aquando da criação de produtos tópicos (Korting & Braun-Falco, 1996). Os produtos tópicos são utilizados como terapêuticas coadjuvantes em muitas doenças dermatológicas, como em alterações da queratinização, por ectoparasitas nos animais domésticos e infecções bacterianas ou fúngicas. Embora raramente estas medicações, quando utilizadas isoladamente, tenham um efeito curativo nestas doenças, elas podem acelerar a sua resolução, ajudar a manter as melhorias obtidas com as terapêuticas sistémicas, aumentar o conforto do paciente ou diminuir a quantidade de medicação sistémica necessária (Matousek et al., 2003). Já em 1960, Jolly et al. (1961) detectaram um aumento no pH médio da pele de um voluntário saudável, após 10 lavagens com um sabão normal. Hoje em dia sabe-se que um aumento no pH da pele do Homem pode ser observado após a limpeza da pele com sabões alcalinos, mas também em menor grau e por um menor período de tempo, após o uso de detergentes sintéticos formulados com o mesmo pH da pele, ou mesmo após lavagens com água da torneira (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Também tem sido demonstrado que o uso de pensos oclusivos e de antibióticos e antisépticos tópicos alteram o pH da superfície cutânea (Ansari, 2009).

Muitos champôs e produtos veterinários de uso auricular contêm, para além de medicações antimicrobianas, agentes acidificantes como o ácido láctico ou o ácido acético. Embora estes agentes acidificantes não tenham actividades antimicrobianas bem definidas, a acidificação da pele humana ou dos condutos auditivos dos canídeos cria teoricamente, um ambiente hostil para microrganismos infecciosos. Existem evidências que apoiam a teoria de que um pH cutâneo ácido diminui a sobrevivência de microrganismos na pele. No geral, são obtidas contagens bacterianas mais elevadas em pele com níveis de pH alcalinos. Para além disso, quando são inoculadas bactérias gram-negativas numa pele alcalina, estas persistem durante um maior período de tempo que na inoculação em peles ácidas (Matousek et al., 2003). Foi também proposto por Mason et al. (citado por Matousek et al., 2003) que a relativa alcalinidade da pele dos canídeos, pode ser responsável pela maior tendência para a ocorrência de infecções de pele em canídeos, quando comparados com o Homem ou outras espécies animais.

Matousek et al. (2003) avaliaram a extensão e duração da acidificação cutânea após uma única aplicação de 4 sprays acidificantes, vinagre (ácido acético) e água na pele de 8 cães saudáveis. Os autores detectaram uma diminuição nos valores de base do pH de pele após a aplicação de cada spray, incluindo após aplicação de água, alteração detectada também num estudo realizado no Homem por Gfatter (1997). Estes resultados indicaram que até a água utilizada em banhos pode afectar o pH cutâneo. Os autores concluíram que os efeitos

acidificantes dos 4 sprays teste e do vinagre podiam diminuir os níveis de bactérias da pele; no entanto, os efeitos do vinagre não se demonstraram duradouros. O vinagre não causou uma diminuição no pH para valores inferiores a 4. Os benefícios observados com o uso do vinagre e outros agentes acidificantes pode dever-se a efeitos antimicrobianos não relacionados com a acidificação. Tanto o ácido acético como o ácido láctico demonstraram ter efeitos inibitórios sobre bactérias e leveduras independentemente do pH. Também é possível que o ácido acético cause uma diminuição breve e imediata do pH local suficiente para afectar os microrganismos. Este estudo demonstrou que o pH cutâneo dos canídeos pode diminuir com o uso de agentes tópicos acidificantes (Matousek et al., 2003). Estes autores num estudo em que determinaram os níveis de pH que inibiam de forma óptima o crescimento de *M. pachydermatis* de origem canina, detectaram que era necessário um $\text{pH} < 4$ para que ocorresse inibição do crescimento das leveduras. Os autores, com estes resultados, sugeriram que produtos tópicos acidificantes poderiam ser terapêuticas benéficas para infecções por leveduras nos cães.

As correntes formas terapêuticas para a dermatite atópica, independentemente do tipo, poderiam explorar os resultados de Hatano et al. (2009), que detectaram que a manutenção da acidificação do estrato córneo de murinos prevenia a ocorrência de dermatite atópica, simplesmente por assegurarem um veículo para as aplicações tópicas tamponizado de modo a obter uma continuada redução do pH do estrato córneo afectado.

Há cerca de 20 anos atrás, Thune et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) investigaram os efeitos do uso de sabões alcalinos e detergentes sintéticos na pele de pacientes humanos idosos não atópicos. Quarenta voluntários com pele seca, com pouca ou nenhuma descamação e sem história de atopia completaram o estudo de acordo com o protocolo. Lavaram um braço com sabão alcalino (pH 9.5) enquanto o outro foi lavado com um detergente sintético (pH 5.5) seguido da aplicação de uma loção (também pH 5.5). Nos grupos de controlo foram incluídos indivíduos jovens e adultos de pele saudável. Os valores médios de pH de todos os grupos encontravam-se dentro do intervalo de 4.9 – 6.3. Um aumento ligeiro no pH foi verificado no grupo com pele seca, após uma semana de tratamento, tanto com detergentes sintéticos como com sabões alcalinos ($p < 0.03$). Apesar do uso intensivo de detergente sintético e loção ácidos, os valores de pH das zonas em teste do grupo da pele seca, aumentaram, no entanto, esses valores mantiveram-se dentro do intervalo de confiança dos grupos de controlo. Os autores atribuem este facto ao efeito neutralizante da água e especularam que um prolongamento do estudo por várias semanas levaria a que se verificasse um efeito acidificante.

Gehring et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) estudaram os efeitos do pH no impacto que soluções de lavagem tinham na pele. Eles puderam demonstrar que produtos de limpeza de pele de composições idênticas mas variando apenas no pH (4.5, 5.9, 7.0 e 7.5), induziam alterações diferentes na hidratação da pele. Todas as preparações causaram

uma diminuição da hidratação abaixo dos níveis basais, isto após um pequeno aumento inicial. A desidratação verificou-se menos pronunciada e de mais curta duração após a lavagem com as formulações acídicas (pH 4.5 e 5.9) quando comparadas com as formulações neutras e em particular com as preparações a um pH 7.5.

Fluhr et al. (citado por Schmid-Wendtner & Korting, 2007) investigaram recentemente a influência de produtos de pele acídicos nas funções epidérmicas de pacientes sob tratamentos quimioterápicos. Sabe-se que pacientes com cancro frequentemente sofrem de problemas de pele, em especial de xerose, devido aos efeitos directos dos fármacos ou aos efeitos indirectos da doença como má nutrição e anemia. Foi então feito um estudo com o intuito de verificar se o tratamento concomitante com produtos de lavagem e emolientes acídicos (pH 5.5) poderia melhorar de modo significativo a qualidade da pele em pacientes sob tratamento quimioterápico. Foram avaliados vários parâmetros cutâneos como a perda de água transepidérmica (PATE), a hidratação do estrato córneo, o pH da superfície cutânea e os níveis de secreções sebáceas. Além disso, foi feita uma avaliação clínica dos sintomas cutâneos. Após 3 semanas de tratamento, todos os sintomas cutâneos revelaram melhorias significativas. Foi registado um aumento significativo na hidratação da pele nos locais tratados, bem como uma PATE reduzida e um aumento nos níveis de secreções sebáceas. Os autores concluíram que o uso regular de produtos acídicos para a pele podia melhorar a secura e a sensibilidade da pele em pacientes sob tratamento quimioterápico, resultando possivelmente numa melhoria da qualidade de vida.

Uma vez que o pH cutâneo representa um papel integrante na função barreira da pele, põe-se a preocupação das acidificações provocadas da pele causarem irritação cutânea. Estudos recentes (citado por Matousek et al., 2003) demonstraram que a irritação para a pele humana é normalmente devida aos ingredientes dos produtos e não ao pH do produto. Contudo, os cães têm a pele mais alcalina que o Homem sendo por isso necessárias mais investigações sobre a potencial ocorrência de irritação da pele de canídeos decorrente do uso de acidificantes cutâneos (Matousek et al., 2003).

Estudos prévios (citado por Fluhr et al., 2009) mostraram que, em recém-nascidos, o pH do estrato córneo diminui de valores na ordem dos 6/7 para os valores dos adultos (pH 5.0 – 5.5) ao longo de 5 ou 6 dias. Como tal, ao nascimento, a epiderme neonatal apresenta uma homeostase da permeabilidade da barreira diminuída, bem como uma integridade do estrato córneo também diminuída, melhorando em 5 – 6 dias (Fluhr et al., 2009). Estudos recentes (citado por Fluhr et al., 2005) mostraram que o tratamento tópico de animais recém-nascidos com activantes do receptor X do fígado (LXR), pode acelerar a acidificação do estrato córneo, em parte devido ao aumento da actividade da sFLA₂. Esta rápida acidificação mediada pela LXR ocorria associada a uma melhoria, tanto na homeostase da permeabilidade da barreira, como na integridade do estrato córneo. Adicionalmente, nos animais recém-nascidos tratados com activantes do LXR observou-se uma melhoria nas

anomalias estruturais, tanto nas membranas lamelares do estrato córneo, como na densidade dos corneodesmossomas e, conseqüentemente, uma melhoria na função destas valências. Dados os efeitos benéficos da activação do LXR no pH do estrato córneo e na estrutura e função cutânea, Fluhr et al. (2009) num estudo recente, colocaram a hipótese de o tratamento com um ou mais activantes do receptor activado por proliferadores de peroxissoma (PPAR) poder também acelerar a acidificação neonatal. Os PPAR são membros da mesma subfamília dos receptores hormonais do LXR. Nos animais adultos, o tratamento tópico com activantes destes PPAR, adicionados a culturas de activantes de queratinócitos humanos, estimulam a diferenciação dos queratinócitos e melhoram a homeostase da permeabilidade da barreira. No estudo, o tratamento tópico com 2 diferentes activantes PPAR α , o clofibrato e o WY14643, aceleraram o declínio pós-natal do pH do estrato córneo. A base morfológica para a melhoria da função barreira nos animais tratados com PPAR α inclui: a mais rápida secreção de corpos lamelares, o aumento da actividade da β -glucocerebrosidase, a melhoria da integridade do estrato córneo, devido ao aumento da densidade de corneodesmossomas e conteúdo em desmogleína-1 e o aumento da actividade da sFLA₂. Os autores concluíram que os activantes de PPAR α , podem ser úteis, enquanto terapêutica tópica, na prevenção de algumas dermatoses comuns dos recém-nascidos.

CONCLUSÃO

A pele situa-se na interface entre a complexa fisiologia do corpo e o ambiente externo, muitas vezes hostil, actuando a barreira epidérmica semi-permeável na prevenção tanto da perda de humidade como da entrada de agentes infecciosos ou tóxicos. É razoável assumir que o pH ácido da pele influencia muitos processos dependentes de pH na epiderme inferior e superior. Doenças inflamatórias de pele comuns no Homem, como a dermatite atópica, exibem uma função de barreira diminuída e estudos recentes sugerem que a complexa resposta celular da epiderme à perturbação da barreira pode agravar, manter ou mesmo iniciar tais condições. Uma ajuda ao restabelecimento da barreira, por exemplo através do uso de produtos de pele apropriados, pode beneficiar o tratamento das doenças de pele (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

Tem sido repetidamente demonstrado que o pH da pele é susceptível a alterações quando se utilizam regularmente preparações de uso cutâneo com um pH maior que 5.5 (Schmid & Korting, 1995). Estes produtos podem ser ajustados a um pH ácido e, como tal, permitir uma limpeza sem dano para o manto ácido da pele. Relativamente à formulação de preparações óptimas de limpeza de pele, tem que se ter em conta que detergentes sintéticos altamente ácidos (pH<5.0) podem ser também irritantes (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

No geral, existem 3 grupos de indivíduos que podem beneficiar em particular do uso de produtos de uso cutâneo sintéticos ácidos:

- Os que têm a pele saudável, mas que frequentemente são sujeitos a banhos. Estes podem manter o seu pH de pele fisiológico através do uso de produtos de limpeza sintéticos acidificados, prevenindo dessa forma, o desenvolvimento de doenças de pele;
- Pacientes com doenças de pele, especialmente com eczema atópico, dermatoses seborreicas, doenças bacterianas ou fúngicas;
- Os que apresentam uma pele sensível, ou seja, com elevado risco para o desenvolvimento de reacções irritativas possivelmente seguidas de dermatite. Estes beneficiam de produtos emolientes a um pH de cerca de 5.5 (Schmid-Wendtner & Korting, 2007).

A reversão do pH anómalo presente nas dermatoses inflamatórias pode não só melhorar a função de permeabilidade da barreira como também reduzir o excesso de descamação, diminuir a colonização de agentes patogénicos e restringir a inflamação (Hachem et al., 2010).

De um ponto de vista prático, é razoável recomendar o uso de produtos dermatológicos sintéticos tendo em conta o seu pH. Quimicamente, um produto chamado de “neutro” tem um valor de pH de 7.0, o que significa que este tipo de produto não é “neutro para a pele”

uma vez que o pH fisiológico da pele do Homem é de cerca de 5.5 (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). É necessária uma chamada de atenção do mercado para o facto de o manto ácido representar um papel na preservação da função barreira, para que se enfatize a importância de produtos com um pH baixo (Yosipovitch & Hu, 2003).

PARTE II

**ESTUDO DO PH DA PELE EM CÃES SAUDÁVEIS E
CÃES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÓNICA**

OBJECTIVOS

Como objectivo, pretendemos conhecer os valores de pH da pele de animais saudáveis das raças de canídeos mais comuns em Portugal, bem como diferenciar e discutir quaisquer diferenças entre o pH da pele de animais jovens, com menos de 11 meses, e animais adultos com idade superior a 1 ano. Para além disso, pretendemos conhecer os valores de pH da pele de canídeos com insuficiência renal crónica (IRC) e comparar com os valores dos animais saudáveis de modo a avaliarmos uma possível relação entre este parâmetro e qualquer alteração dermatológica nestes pacientes.

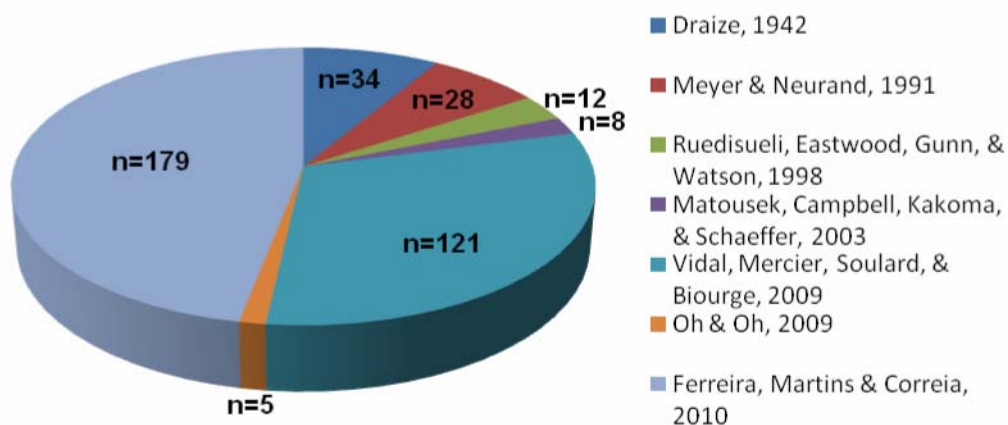
MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

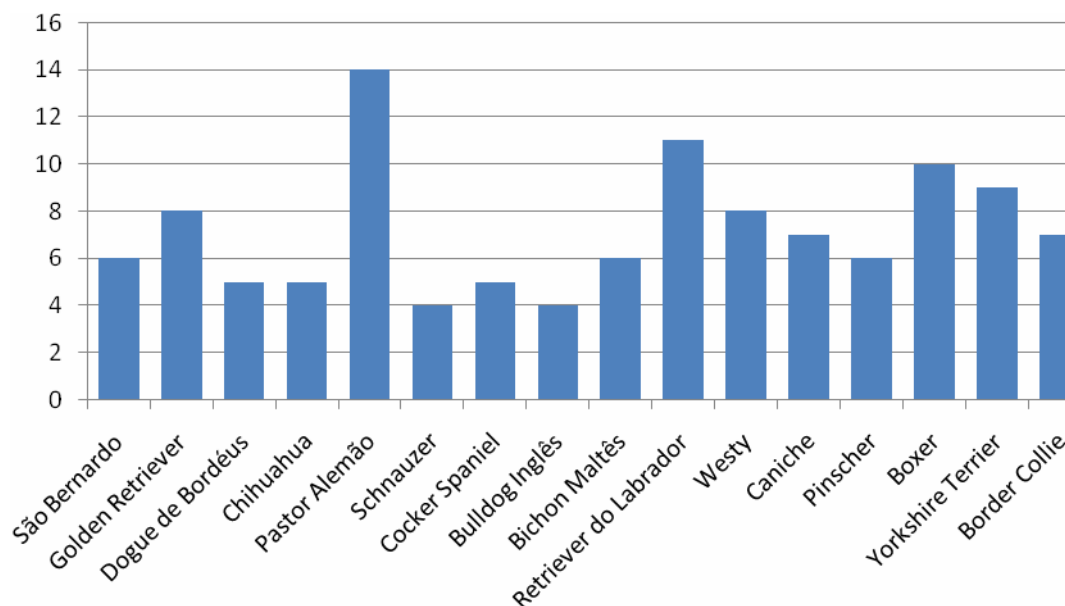
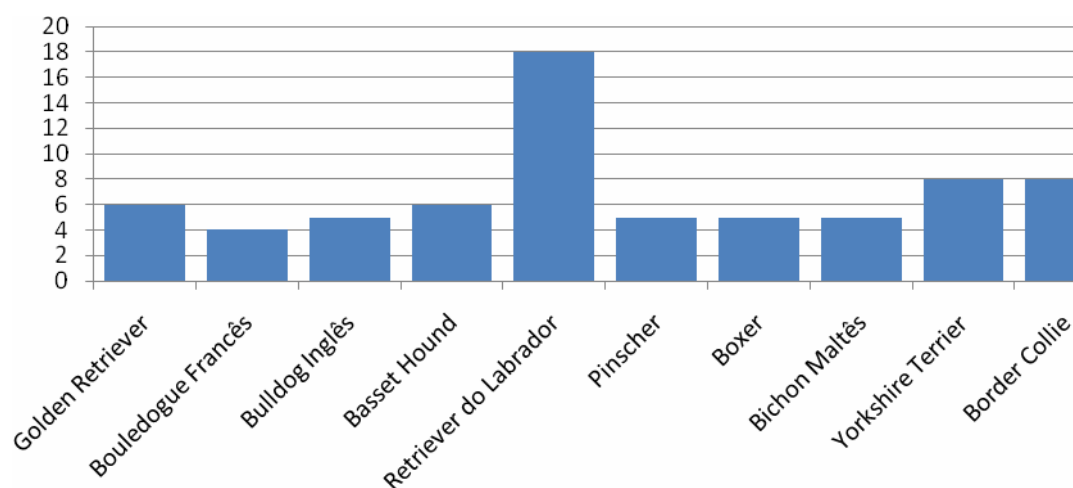
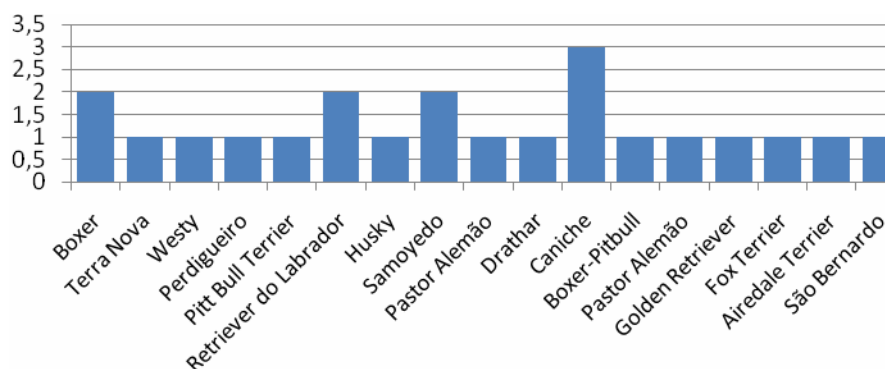
O presente estudo incluiu um total de 197 animais de ambos os sexos, com idades compreendidas entre 1 mês e 16 anos e de diversas raças. Os valores de pH destes animais foram avaliados no Hospital Escolar da FMV-UTL, bem como nas instalações de vários criadores, com o consentimento dos seus donos ou criadores.

Para análise do pH da pele de cães saudáveis foram seleccionados um total de 179 canídeos (Figura 14), 111 cães saudáveis adultos, com idade superior a 1 ano, correspondendo a 68 fêmeas e 45 machos, de 16 raças (Figura 15) e 68 cães jovens, com menos de 12 meses, sendo 30 fêmeas e 38 machos, pertencendo a 10 raças distintas (Figura 16). Estes animais encontravam-se no momento das leituras em perfeito estado hígido, e sem quaisquer alterações cutâneas.

Figura 14: Amostra incluída nos diferentes estudos de pH de pele em cães.



Para análise do pH da pele de cães insuficientes renais crónicos, foram seleccionados 18 cães, com idades compreendidas entre os 3 e os 16 anos, de várias raças (Figura 17), no momento internados no Hospital Escolar da FMV-UTL.

Figura 15: Raças de animais adultos incluídas no presente estudo.**Figura 16:** Raças de animais jovens incluídas no presente estudo.**Figura 17:** Raças de animais com IRC incluídas no estudo.

Regiões anatómicas e protocolo

Foram feitas medições em 7 áreas diferentes do corpo (focinho, face interna do pavilhão auricular, região interdigital dorsal e ventral, axila, região inguinal e região do flanco) (Figura 18). As medições foram efectuadas tendo em conta as condições fisiológicas dos animais, não se tendo realizado tosquia prévia ou banho e não tendo sido usados quaisquer produtos para a pele ou pêlo. Foi efectuada apenas uma medição em cada região anatómica, respeitando os procedimentos de medição sugeridos pelo grupo EEMCO.

Figura 18: Regiões anatómicas em que foram efectuadas as medições de pH de pele (focinho, face interna do pavilhão auricular, região interdigital dorsal e ventral, axila, região inguinal e região do flanco).



Equipamento de medição

O pH da pele foi medido usando um medidor de pH de pele (PH 900; Courage & Khazaka, Colónia, Alemanha) tendo sido utilizada para o efeito uma sonda de vidro plana.

Métodos estatísticos

Como as variáveis dependentes (nível de pH) são de tipo quantitativo utilizou-se a estatística paramétrica. Os pressupostos destes testes, designadamente a normalidade da distribuição dos valores e a homogeneidade de variâncias foram analisados com os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Nas hipóteses em que se comparam dois grupos utilizou-se o teste t de Student para amostras independentes. Nas hipóteses em que se comparam os valores de pH entre as zonas anatómicas, uma vez que se tratam de valores dos mesmos sujeitos, utilizou-se a Anova Repeated Measures. A análise estatística foi efectuada com o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 18.0 para Windows.

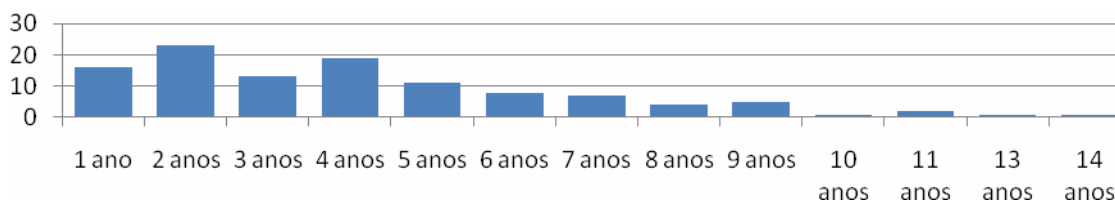
RESULTADOS

Canídeos adultos

Foram seleccionados 111 cães, com uma média de idades de 4,2 anos variando entre 1 e 14 anos (Figura 19). O pH médio das várias regiões medidas, variou entre os 4,9 e os 8,3, tendo-se obtido um pH médio de 6,6 (Tabela 9).

Tabela 9: pH médio dos canídeos adultos.

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Adultos	111	4,94	8,26	6,6353	,66504

Figura 19: Variação das idades dos animais adultos incluídos no presente estudo.

- **O pH e a idade**

As diferenças de pH em função da idade não foram estatisticamente significativas (Tabela 10). Devido ao número da amostra não ser uniforme para todas as idades representadas, houve necessidade de se dividir o grupo dos adultos em animais mais novos (de 1 a 3 anos) e mais velhos (dos 4 aos 14 anos). Apesar de não haverem diferenças estatisticamente significativas entre o pH de animais mais novos e mais velhos, é de referir-se que os animais mais velhos apresentaram de forma consistente um pH mais elevado que os animais mais novos, apenas não se verificando tal facto no pH do pavilhão auricular (Tabela 11 e Figura 20).

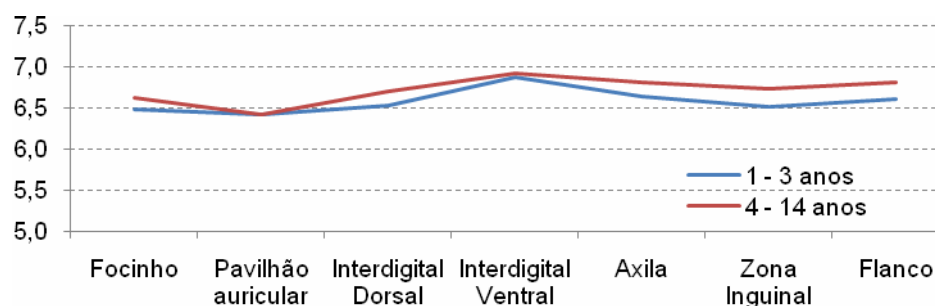
Tabela 10: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e a idade.

Regiões anatómicas	t	Gl	Sig.
Focinho	-,733	107	,465
Pavilhão auricular	,014	109	,989
Interdigital Dorsal	-1,281	109	,203
Interdigital Ventral	-,235	109	,815
Axila	-1,113	109	,268
Zona Inguinal	-1,549	109	,124
Flanco	-1,235	109	,219

Tabela 11: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nos animais mais novos (1 a 3 anos) e mais velhos (4 a 14 anos).

	Género	N	Média	Desvio padrão
Focinho	mais novos	52	6,483	,9974
	mais velhos	57	6,623	,9962
Pavilhão auricular	mais novos	52	6,419	,8122
	mais velhos	59	6,417	,8975
Interdigital Dorsal	mais novos	52	6,52	,650
	mais velhos	59	6,69	,703
Interdigital Ventral	mais novos	52	6,877	,6594
	mais velhos	59	6,910	,8119
Axila	mais novos	52	6,631	,7752
	mais velhos	59	6,802	,8343
Zona Inguinal	mais novos	52	6,504	,6499
	mais velhos	59	6,734	,8798
Flanco	mais novos	52	6,60	,843
	mais velhos	59	6,80	,857

Figura 20: pH médio da pele de animais adultos mais novos (com 1 a 3 anos) e mais velhos (dos 4 aos 14 anos).



• O pH e o género

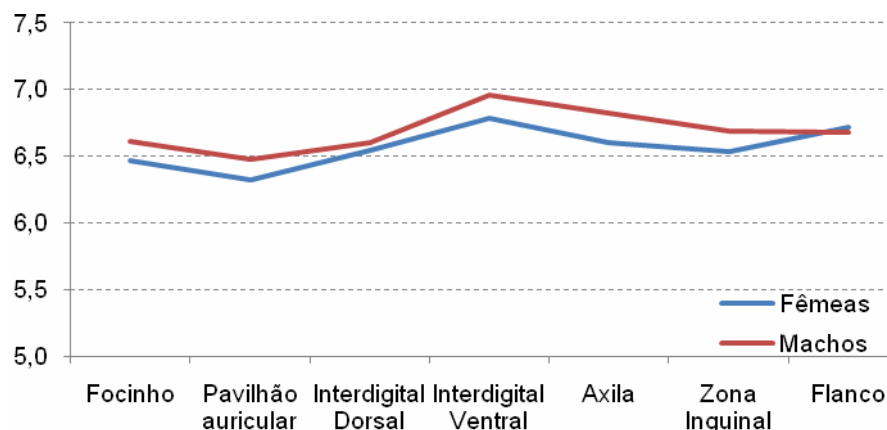
Nos canídeos adultos as diferenças de pH em função do género não são estatisticamente significativas (Tabela 12). Apesar deste facto, é de referir-se que os machos, apresentaram de forma consistente um pH mais elevado que as fêmeas (Tabela 13 e Figura 21).

Tabela 12: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e o género.

Regiões anatómicas	t	Gl	Sig.
Focinho	-,789	111	,432
Pavilhão auricular	-,911	113	,364
Interdigital Dorsal	-,428	113	,669
Interdigital Ventral	-1,140	113	,257
Axila	-1,393	113	,166
Zona Inguinal	-,984	113	,327
Flanco	,208	111	,836

Tabela 13: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nas fêmeas e machos.

	Género	N	Média	Desvio padrão
Focinho	Fêmeas	68	6,465	,9729
	Machos	45	6,616	1,0291
Pavilhão auricular	Fêmeas	69	6,326	,8210
	Machos	46	6,476	,9284
Interdigital Dorsal	Fêmeas	69	6,54	,711
	Machos	46	6,60	,756
Interdigital Ventral	Fêmeas	69	6,790	,7846
	Machos	46	6,957	,7426
Axila	Fêmeas	69	6,601	,8637
	Machos	46	6,820	,7568
Zona Inguinal	Fêmeas	69	6,535	,8773
	Machos	46	6,685	,6680
Flanco	Fêmeas	68	6,716	,9315
	Machos	45	6,682	,7062

Figura 21: Valores de pH: machos *versus* fêmeas.

- **O pH e as regiões anatómicas**

Relativamente à diferenciação das regiões anatómicas, o valor máximo de pH foi obtido na região interdigital ventral, com 6,9 e o mínimo no pavilhão auricular com 6,4. Nas restantes regiões obtiveram-se valores médios de 6,5 para o focinho, 6,6 para a região interdigital dorsal, 6,7 para a região axilar, 6,6 para a região inguinal e 6,7 para a região do flanco (Tabela 14 e Figura 22). As diferenças de pH entre as regiões anatómicas são estatisticamente significativas ($p=0,000$) (Tabela 15).

Tabela 14: Estatísticas descritivas referentes ao pH das diferentes regiões anatómicas dos animais adultos.

	Média	Desvio padrão
Focinho	6,546	,9898
Pavilhão auricular	6,405	,8614
Interdigital Dorsal	6,580	,696
Interdigital Ventral	6,888	,7482
Axila	6,706	,8222
Zona Inguinal	6,613	,8064
Flanco	6,706	,8525

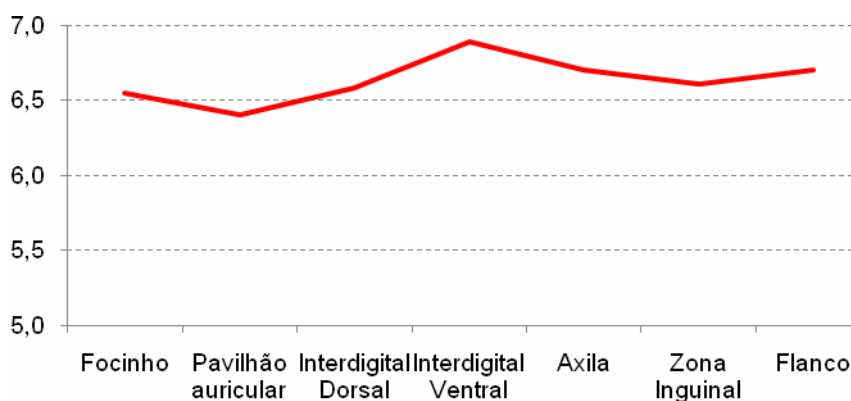
Figura 22: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos.

Tabela 15: Testes de Within-Subjects Effects referentes aos valores de pH das várias regiões anatómicas nos animais adultos.

Fonte		Type III Soma dos quadrados	gl	Média dos quadrados	F	Sig.
factor1	Sphericity Assumed	15,385	6	2,564	8,926	,000
	Greenhouse-Geisser	15,385	3,882	3,963	8,926	,000
	Huynh-Feldt	15,385	4,042	3,806	8,926	,000
	Lower-bound	15,385	1,000	15,385	8,926	,003
Error(factor1)	Sphericity Assumed	189,595	660	,287		
	Greenhouse-Geisser	189,595	427,050	,444		
	Huynh-Feldt	189,595	444,625	,426		
	Lower-bound	189,595	110,000	1,724		

- **O pH e a pigmentação da pele**

Detectou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o pH da pele de animais pigmentados e com ausência de pigmento (Tabela 16 e 17 e Figura 23). Os animais com ausência de pigmento apresentaram valores médios significativamente mais elevados de pH de pele que os animais pigmentados no focinho ($p \leq 0,10$, $p=0,059$), pavilhão auricular ($p \leq 0,05$, $p=0,017$), região interdigital dorsal ($p \leq 0,10$, $p=0,073$), região interdigital ventral ($p \leq 0,05$, $p=0,001$) e axila ($p \leq 0,05$, $p=0,023$).

Tabela 16: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e a pigmentação da pele.

Regiões anatómicas	t	GI	Sig.
Focinho	-1,913	95	,059 **
Pavilhão auricular	-2,436	97	,017 *
Interdigital Dorsal	-1,811	97	,073 **
Interdigital Ventral	-3,311	97	,001 *
Axila	-2,313	97	,023 *
Zona Inguinal	-1,266	97	,209
Flanco	-1,553	95	,124

* $p \leq 0,05$

** $p \leq 0,10$

Figura 23: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos com pele pigmentada e com pele ausente de pigmento.

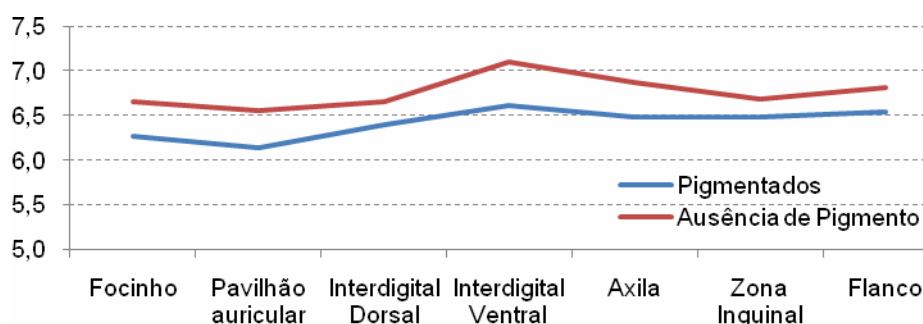


Tabela 17: Estatísticas descritivas referentes ao pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos com pele pigmentada e com pele ausente de pigmento.

	Género	N	Média	Desvio padrão
Focinho	Pigmentada	44	6,268	,9042
	Não pigmentada	53	6,649	1,0323
Pavilhão auricular	Pigmentada	46	6,135	,7677
	Não pigmentada	53	6,549	,9046
Interdigital Dorsal	Pigmentada	46	6,40	,649
	Não pigmentada	53	6,66	,762
Interdigital Ventral	Pigmentada	46	6,607	,7025
	Não pigmentada	53	7,102	,7752
Axila	Pigmentada	46	6,483	,7827
	Não pigmentada	53	6,870	,8699
Zona Inguinal	Pigmentada	46	6,478	,7462
	Não pigmentada	53	6,687	,8749
Flanco	Pigmentada	45	6,54	,808
	Não pigmentada	52	6,82	,928

• O pH e a raça

Relativamente às diferenças de pH da pele entre raças, nos adultos, detectaram-se diferenças estatisticamente significativas no pH de pele médio de algumas raças, quando comparadas com a média global da amostra.

As raças que apresentaram diferenças estatisticamente significativas, e em que o pH se revelou mais elevado que a média global foram o Golden Retriever (n=7), com valores médios de 7,4 ($p \leq 0,05$; $p=0,019$), o São Bernardo (n=6), com valores médios de 7,3 ($p \leq 0,05$; $p=0,008$) e o Pastor Alemão (n=13) com valores médios de 6,9 ($p \leq 0,10$; $p=0,069$). Relativamente às raças que apresentaram diferenças estatisticamente significativas, e em que o pH se revelou mais baixo que a média global, destacam-se o Boxer (n=9) com valores médios de 6,2 ($p \leq 0,10$; $p=0,079$), o Yorkshire Terrier (n=8) com valores médios de 6,2 ($p \leq 0,10$; $p=0,078$) e o Border Collie (n=7) com valores médios de 5,9 ($p \leq 0,05$; $p=0,015$) (Tabela 18 e Figura 24). Em todas as outras raças, as diferenças relativamente à média global não foram estatisticamente relevantes.

Figura 24: Valores de pH nas diferentes raças dos animais adultos.

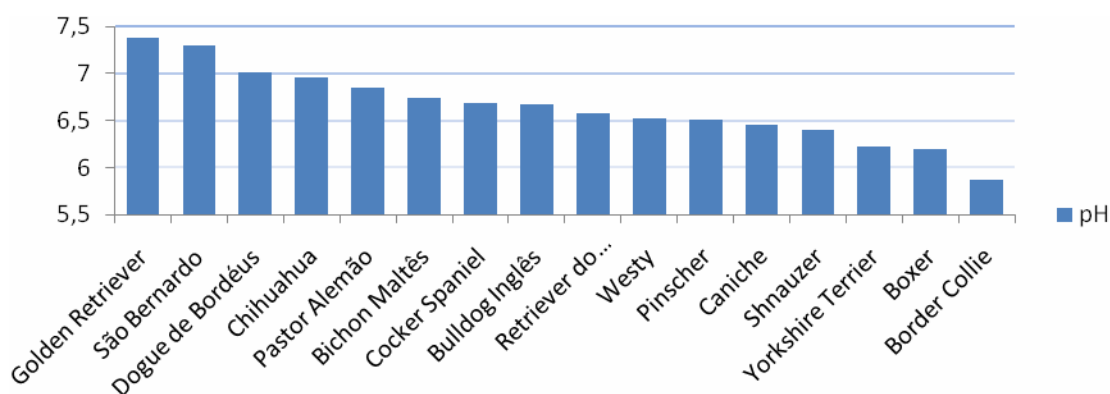


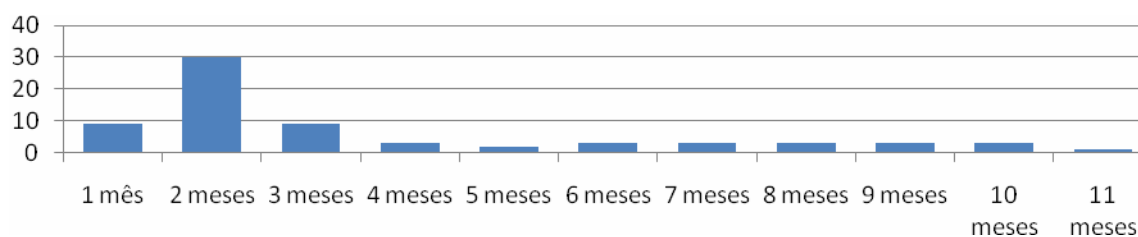
Tabela 18: Valores de pH e significância das várias raças de adultos incluídas no presente estudo.

Raças	N	Média	D p	Sig.
Yorkshire Terrier	8	6,23	,50	,078 *
Caniche	7	6,45	,70	,617
Chihuahua	5	6,96	,47	,159
Pinscher	6	6,51	,20	,349
Golden Retriever	7	7,38	,65	,019 **
Retriever do Labrador	11	6,58	,72	,931
Pastor Alemão	13	6,85	,46	,069 *
Boxer	9	6,20	,59	,079 *
São Bernardo	6	7,30	,41	,008 **
Shnauzer	4	6,40	1,08	,742
Westy	8	6,53	,41	,690
Dogue de Bordéus	5	7,01	,60	,200
Bulldog Inglês	4	6,67	,30	,640
Bichon Maltês	6	6,74	,34	,367
Border Collie	7	5,87	,57	,015 **
Cocker Spaniel	5	6,68	,89	,852

*p ≤ 0,10 **p ≤ 0,05

Canídeos jovens

Relativamente aos animais jovens, foram seleccionados 68 cães, com uma média de idades de 3,6 meses, variando entre 1 e 11 meses (Figura 25). O pH médio das várias regiões medidas, variou entre os 5,1 e os 8,3, tendo-se obtido um pH médio de 6,4 (Tabela 19).

Figura 25: Variação das idades dos animais jovens.**Tabela 19:** pH médio dos canídeos jovens.

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Cachorros	68	5,06	8,26	6,3653	,62546

- O pH e a idade

As diferenças de pH em função da idade foram estatisticamente significativas apenas nos valores referentes ao pH da região inguinal e do flanco (Tabela 20). Devido ao número da amostra não ser uniforme para todas as idades representadas, houve necessidade de se

dividir o grupo dos cachorros em animais mais novos (com 1 e 2 meses de idade) e mais velhos (dos 3 aos 11 meses). Na região inguinal ($p \leq 0,05$; $p=0,050$) e no flanco ($p \leq 0,10$; $p=0,019$) os cachorros mais novos têm um valor de pH significativamente mais baixo do que os cachorros mais velhos (6,06 *versus* 6,44 e 6,30 *versus* 6,78, respectivamente) (Tabela 21 e Figura 26).

Tabela 20: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e a idade.

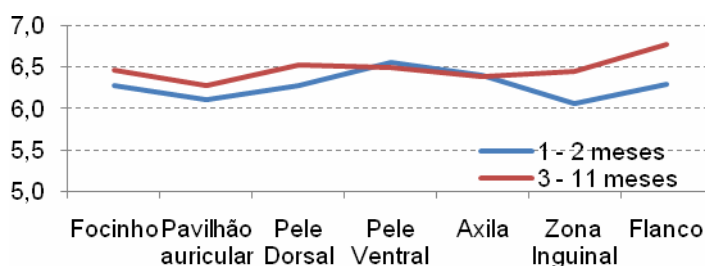
Regiões anatómicas	t	GI	Sig.
Focinho	-,809	34,928	,424
Pavilhão auricular	-1,107	47,639	,274
Interdigital Dorsal	-1,205	67	,233
Interdigital Ventral	,278	52,791	,782
Axila	,100	50,800	,920
Zona Inguinal	-2,022	38,199	,050 **
Flanco	-2,413	67	,019 *

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,10$

Tabela 21: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nos animais mais novos (1 e 2 meses) e mais velhos (3 a 11 meses).

	Género	N	Média	Desvio padrão
Focinho	mais novos	39	6,277	,4642
	mais velhos	29	6,459	1,1410
Pavilhão auricular	mais novos	39	6,105	,4850
	mais velhos	30	6,277	,7342
Interdigital Dorsal	mais novos	39	6,28	,761
	mais velhos	30	6,52	,858
Interdigital Ventral	mais novos	39	6,551	,7653
	mais velhos	30	6,490	1,0012
Axila	mais novos	39	6,408	,7016
	mais velhos	30	6,387	,9691
Zona Inguinal	mais novos	39	6,067	,4343
	mais velhos	30	6,447	,9562
Flanco	mais novos	39	6,30	,640
	mais velhos	30	6,78	1,026

Figura 26: pH médio da pele de cachorros mais novos (com 1 e 2 meses) e mais velhos (dos 3 aos 11 meses).



• O pH e o género

Nos canídeos jovens as diferenças de pH em função do género não são estatisticamente significativas a não ser nos valores de pH da região inguinal ($p \leq 0,10$, $p=0,099$) em que os machos têm um valor de pH significativamente mais elevado do que as fêmeas (6,35 *versus* 6,06) (Tabela 22 e 23 e Figura 27).

Tabela 22: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e o género nos animais jovens.

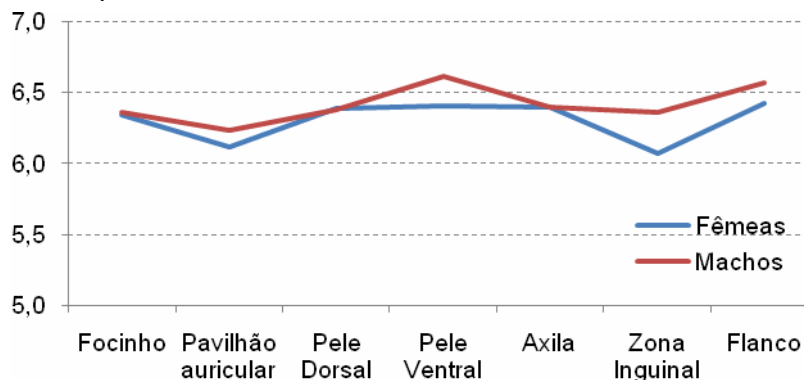
Regiões anatómicas	t	gl	Sig.
Focinho	-,069	66	,946
Pavilhão auricular	-,794	67	,430
Interdigital Dorsal	,027	67	,978
Interdigital Ventral	-1,017	67	,313
Axila	-,017	67	,987
Zona Inguinal	-1,673	67	,099 *
Flanco	-,722	67	,473

* $p \leq 0,10$

Tabela 23: Estatísticas descritivas referentes ao pH das várias regiões anatómicas nas fêmeas e machos jovens.

	Género	N	Média	Desvio padrão
Focinho	Fêmeas	30	6,347	,7895
	Machos	38	6,361	,8560
Pavilhão auricular	Fêmeas	30	6,113	,6061
	Machos	39	6,231	,6109
Interdigital Dorsal	Fêmeas	30	6,39	,905
	Machos	39	6,38	,735
Interdigital Ventral	Fêmeas	30	6,403	,9510
	Machos	39	6,618	,8009
Axila	Fêmeas	30	6,397	,6975
	Machos	39	6,400	,9154
Zona Inguinal	Fêmeas	30	6,067	,6381
	Machos	39	6,359	,7759
Flanco	Fêmeas	30	6,423	,7951
	Machos	39	6,574	,9084

Figura 27: Valores de pH: machos *versus* fêmeas.



- **O pH e as regiões anatómicas**

Relativamente à diferenciação das regiões anatómicas, o valor máximo de pH foi obtido na região interdigital ventral, com 6,5 e o mínimo no pavilhão auricular e região inguinal com 6,2. Nas restantes regiões obtiveram-se valores médios de 6,4 para o focinho, 6,4 para a região interdigital dorsal, 6,4 para a região axilar e 6,5 para a região do flanco (Tabela 24 e Figura 28).

As diferenças de pH entre as regiões anatómicas são estatisticamente significativas ($p=0,003$) (Tabela 25).

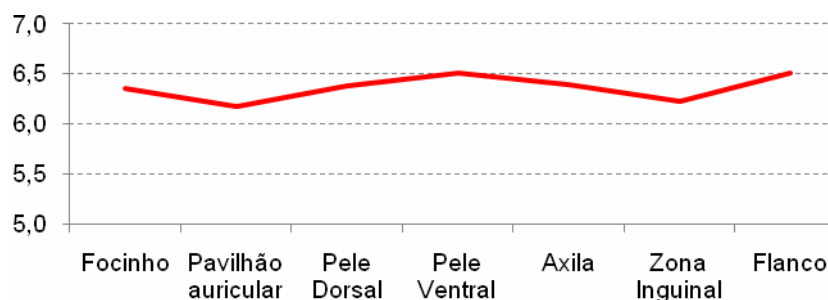
Tabela 24: Estatísticas descritivas, referentes ao pH das diferentes regiões anatómicas dos animais jovens.

	Média	Desvio padrão
Focinho	6,354	,8213
Pavilhão auricular	6,175	,6105
Interdigital Dorsal	6,38	,812
Interdigital Ventral	6,515	,8718
Axila	6,388	,8236
Zona Inguinal	6,232	,7343
Flanco	6,510	,8644

Tabela 25: Testes de Within-Subjects Effects referentes aos valores de pH das várias regiões anatómicas nos cachorros.

Fonte		Type III Soma dos quadrados	gl	Média dos quadrados	F	Sig.
factor1	Sphericity Assumed	6,676	6	1,113	3,942	,001
	Greenhouse-Geisser	6,676	4,337	1,539	3,942	,003
	Huynh-Feldt	6,676	4,674	1,428	3,942	,002
	Lower-bound	6,676	1,000	6,676	3,942	,051
Error(factor1)	Sphericity Assumed	113,467	402	,282		
	Greenhouse-Geisser	113,467	290,550	,391		
	Huynh-Feldt	113,467	313,156	,362		
	Lower-bound	113,467	67,000	1,694		

Figura 28: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais adultos.



- **O pH e a pigmentação da pele**

Nos animais jovens foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o pH da pele de animais pigmentados e com ausência de pigmento apenas no focinho e na região interdigital ventral (Tabela 26 e 27 e Figura 29). Os animais com ausência de pigmento apresentaram valores médios significativamente mais elevados de pH de pele que os animais pigmentados no focinho ($p \leq 0,10$, $p=0,085$) e região interdigital ventral ($p \leq 0,05$, $p=0,023$) 6,48 *versus* 6,11 e 6,67 *versus* 6,17, respectivamente.

Tabela 26: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH e a pigmentação da pele dos animais jovens.

Regiões anatómicas	t	GI	Sig.
Focinho	-1,748	65	,085 **
Pavilhão auricular	-1,191	66	,238
Interdigital Dorsal	-,870	66	,387
Interdigital Ventral	-2,324	66	,023 *
Axila	,117	66	,907
Zona Inguinal	-1,091	66	,279
Flanco	,167	66	,868

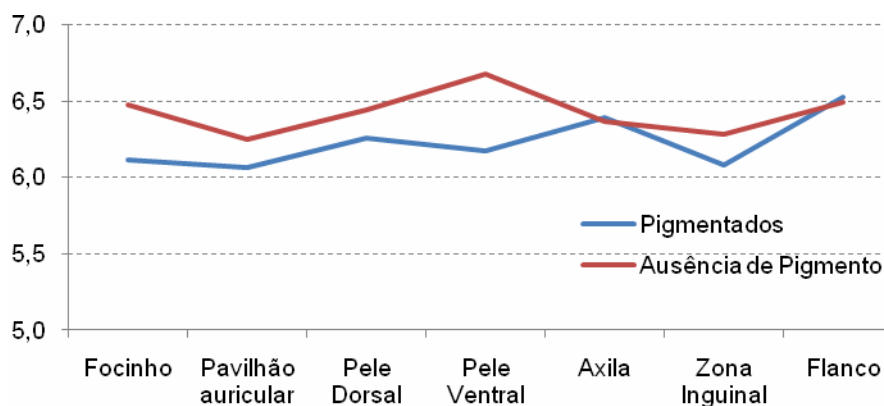
* $p \leq 0,05$

** $p \leq 0,10$

Tabela 27: Estatísticas descritivas referentes aos valores pH das várias regiões anatómicas dos cachorros com pele com ausência de pigmento e pele pigmentada.

	Género	N	Média	Desvio padrão
Focinho	Pigmentada	23	6,113	,6737
	Não pigmentada	44	6,480	,8783
Pavilhão auricular	Pigmentada	23	6,061	,5719
	Não pigmentada	45	6,247	,6265
Interdigital Dorsal	Pigmentada	23	6,26	,589
	Não pigmentada	45	6,44	,905
Interdigital Ventral	Pigmentada	23	6,178	,5543
	Não pigmentada	45	6,678	,9494
Axila	Pigmentada	23	6,396	,8216
	Não pigmentada	45	6,371	,8170
Zona Inguinal	Pigmentada	23	6,083	,6162
	Não pigmentada	45	6,284	,7687
Flanco	Pigmentada	23	6,53	,890
	Não pigmentada	45	6,49	,858

Figura 29: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais jovens com pele com ausência de pigmento e pele pigmentada.



• O pH e a raça

Relativamente às diferenças de pH da pele entre raças, nos cachorros, detectaram-se diferenças estatisticamente significativas no pH de pele médio de algumas raças, quando comparadas com a média global da amostra.

A única raça que apresentou diferenças estatisticamente significativas, e em que o pH se revelou mais elevado que a média global foi o Golden Retriever (n=6), com valores médios de 7,6 ($p \leq 0,05$; $p=0,001$). Relativamente às raças que apresentaram diferenças estatisticamente significativas, e em que o pH se revelou mais baixo que a média global, destacam-se apenas o Yorkshire Terrier (n=8) com valores médios de 5,9 ($p \leq 0,05$; $p=0,002$) e o Border Collie (n=8) com valores médios de 5,8 ($p \leq 0,05$; $p=0,000$) (Tabela 28 e Figura 30).

Em todas as outras raças, as diferenças relativamente à média global não foram estatisticamente relevantes.

Figura 30: Valores de pH nas diferentes raças dos animais jovens.

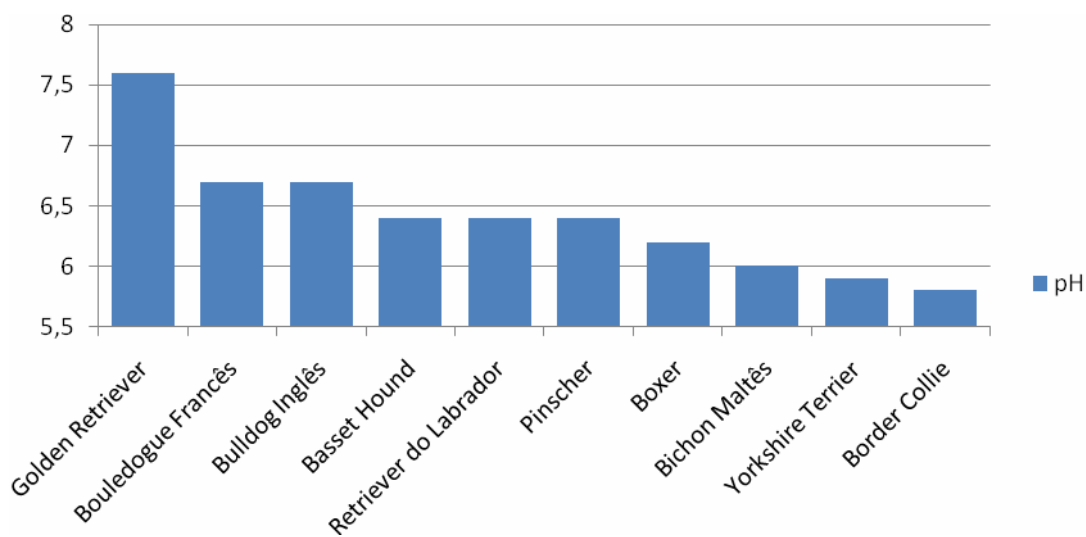


Tabela 28: Valores de pH e significância das várias raças de cachorros incluídas no estudo.

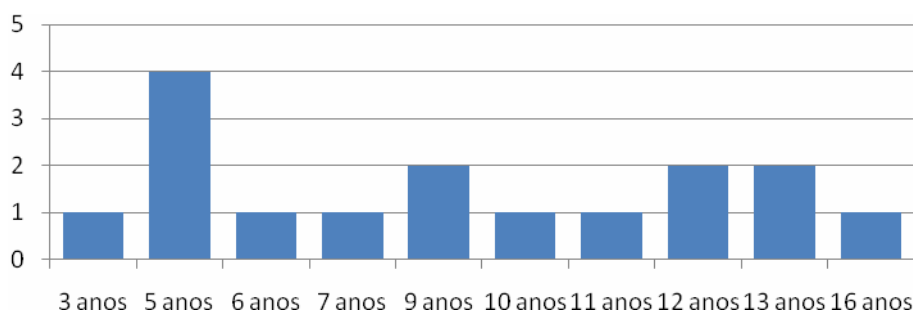
Raças	N	Média	D p	Sig.
Yorkshire Terrier	8	5,86	,30	,002 **
Pinscher	5	6,39	,57	,975
Golden Retriever	6	7,61	,43	,001 **
Retriever do Labrador	18	6,43	,24	,555
Boxer	5	6,22	,37	,369
Bulldog Inglês	4	6,63	,33	,262
Bichon Maltês	5	6,04	,64	,281
Border Collie	8	5,78	,20	,000 **
Bulldog Francês	4	6,68	,87	,557
Basset Hound	5	6,30	,62	,753

*p ≤ 0,10 **p ≤ 0,05

Canídeos Insuficientes Renais Crónicos (IRC)

Relativamente aos animais insuficientes renais crónicos, foram incluídos 18 cães de ambos os sexos com idade média de 8,8 anos de idade, variando entre os 3 e 16 anos (Figura 31), tendo sido o diagnóstico confirmado através de critérios clínicos e laboratoriais.

O pH médio das várias regiões medidas, variou entre os 5,0 e os 7,9, tendo-se obtido um pH médio de 6,1 (Tabela 29).

Figura 31: Variação das idades dos animais IRC.**Tabela 29:** pH médio dos canídeos com insuficiência renal crónica.

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
IRC	18	4,97	7,91	6,1460	,74797

Relativamente à diferenciação das regiões anatómicas, os valores máximos de pH foram obtidos na região interdigital ventral, na região axilar e na região inguinal com valores de 6,3. Os valores mínimos de pH foram detectados no pavilhão auricular e na região interdigital dorsal com 6,0. Nas restantes regiões obtiveram-se valores médios de 6,2 para o focinho e

6.1 para a região do flanco (Figura 32). As diferenças de pH entre as regiões anatómicas não são estatisticamente significativas ($p=0,329$) (Tabela 30 e 31).

Figura 32: Valores de pH nas diferentes regiões anatómicas dos animais IRC.

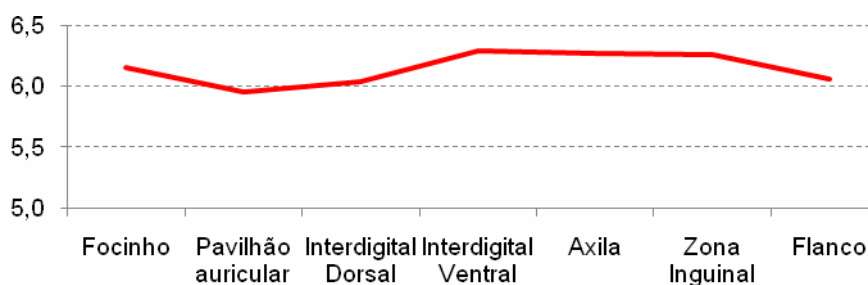


Tabela 30: Testes de Within-Subjects Effects referentes aos valores de pH das várias regiões anatómicas nos canídeos com insuficiência renal crónica.

Fonte		Type III Soma dos quadrados	gl	Média dos quadrados	F	Sig.
factor1	Sphericity Assumed	1,923	6	,321	1,172	,327
	Greenhouse-Geisser	1,923	2,897	,664	1,172	,329
	Huynh-Feldt	1,923	3,556	,541	1,172	,331
	Lower-bound	1,923	1,000	1,923	1,172	,294
Error(factor1)	Sphericity Assumed	27,894	102	,273		
	Greenhouse-Geisser	27,894	49,247	,566		
	Huynh-Feldt	27,894	60,444	,461		
	Lower-bound	27,894	17,000	1,641		

Tabela 31: Testes t de Student para amostras independentes, referentes ao pH das diferentes regiões anatómicas dos canídeos com insuficiência renal crónica.

	Média	Desvio padrão
Focinho	6,156	,166
Pavilhão auricular	5,956	,184
Interdigital Dorsal	6,033	,229
Interdigital Ventral	6,289	,208
Axila	6,272	,157
Zona Inguinal	6,261	,186
Flanco	6,056	,304

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Canídeos saudáveis jovens e adultos

Os resultados obtidos foram consistentes com os estudos prévios demonstrando que os canídeos apresentam um pH de pele tendendo para a alcalinidade, diferenciando-se da maioria das espécies que apresentam tendência para um pH de pele ácido. É importante

referir que todos os estudos apresentam intervalos diferentes, abrangendo, no entanto, a mesma gama de valores. O presente estudo, de todos os analisados, à excepção do realizado por Meyer & Neurand (1991), foi o que apresentou a média de pH de pele de canídeos mais baixa (Tabela 32). Esta discrepância poderá dever-se em parte aos métodos utilizados para a medição do pH da pele. Nos cachorros a média foi ligeiramente mais ácida que a média dos adultos o que segundo Draize (1942) pode estar relacionado com o estado de saúde e de limpeza destes animais.

Tabela 32: Médias de pH de pele de canídeos obtidas pelos vários autores.

Autores	Valores médios de pH de pele para canídeos
Draize, 1942	Médio: 7,52
Meyer & Neurand, 1991	Flanco: 5,86
Ruedisueli et al., 1998	Flanco: 7,48; Pavilhão Auricular: 6,11
Matousek et al., 2003	Médio: 7,55
Vidal et al., 2009	Região inguinal: 7,2
Oh & Oh, 2009	Flanco: 8,5
Ferreira, Martins & Correia, 2010	Adultos: Médio: 6,6; Flanco: 6,7; Pavilhão auricular: 6,4; Região inguinal: 6,6 Cachorros: Médio: 6,4; Flanco: 6,5; Pavilhão auricular: 6,2; Região inguinal: 6,2

A idade tem vindo a ser implicada como um factor influenciador do pH da pele. Estudos prévios indicam que a pele do Homem sofre um processo de adaptação e maturação no período pós-natal. No entanto, no Homem, desde a infância até aos 70 anos, o pH parece manter-se relativamente constante, aumentando significativamente após esse período (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Foi documentado para a pele de humanos idosos, com mais de 80 anos, um aumento no pH, bem como uma capacidade tampão reduzida tendo sido sugerido que este aumento contribui para a hipersensibilidade da pele a irritantes e a infecções bacterianas (Rippke et al., 2002).

No presente estudo identificámos uma relação estatisticamente significativa entre os valores de pH de animais jovens com 1 e 2 meses e com mais de 3 meses até aos 11 meses apenas para a região inguinal e flanco, em que os animais mais novos apresentavam valores de pH mais baixos que os mais velhos. Verificou-se também que os canídeos com mais de 4 anos apresentavam um pH consistentemente mais elevado que os animais entre 1 e 3 anos. É contudo importante referir que para obtenção de uma conclusão, houve necessidade de se dividirem os animais por idade. Esta divisão, no entanto, foi feita consoante o número da amostra. Por não termos tido oportunidade de realizar medições de pH de pele a um número considerável de animais mais velhos, pensamos ser importante em estudos posteriores a inclusão de uma amostra significativa de canídeos com idades avançadas de modo a se poder comprovar uma relação, ou a falta dela, entre a idade e o pH da pele de canídeos.

Após comparação dos valores de pH das diferentes regiões anatómicas dos cachorros com os adultos, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas para o pavilhão auricular ($p \leq 0,10$; $p=0,060$), região interdigital ventral ($p \leq 0,05$; $p=0,008$), axila ($p \leq 0,05$; $p=0,022$) e região inguinal ($p \leq 0,05$; $p=0,002$) (Tabela 33) em que os adultos apresentam valores de pH mais elevados (Tabela 34 e Figura 33).

Tabela 33: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH da pele de cachorros e animais adultos.

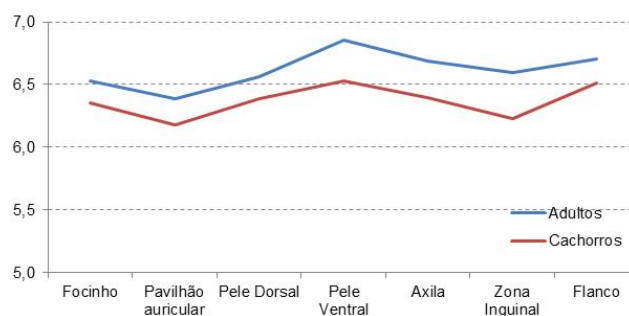
Regiões anatómicas	t	Gl	Sig.
Focinho	1,247	182	,214
Pavilhão auricular	1,896	182	,060 **
Interdigital Dorsal	1,537	182	,126
Interdigital Ventral	2,697	182	,008 *
Axila	2,311	182	,022 *
Zona Inguinal	3,077	182	,002 *
Flanco	1,493	180	,137

** $p \leq 0,10$ * $p \leq 0,05$

Tabela 34: Estatísticas descritivas referentes aos valores pH das várias regiões anatómicas dos cachorros e dos adultos.

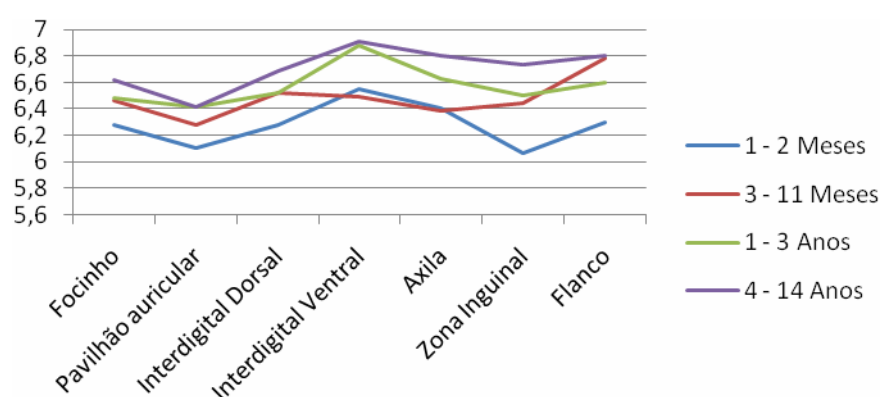
	Tipo	N	Média	Desvio padrão
Focinho	Adultos	113	6,52	,993
	Cachorros	68	6,35	,821
Pavilhão auricular	Adultos	115	6,38	,864
	Cachorros	69	6,18	,607
Interdigital Dorsal	Adultos	115	6,56	,726
	Cachorros	69	6,38	,807
Interdigital Ventral	Adultos	115	6,85	,769
	Cachorros	69	6,52	,869
Axila	Adultos	115	6,68	,826
	Cachorros	69	6,39	,822
Zona Inguinal	Adultos	115	6,59	,800
	Cachorros	69	6,23	,728
Flanco	Adultos	113	6,70	,845
	Cachorros	69	6,50	,858

Figura 33: Valores de pH: adultos *versus* cachorros.



Comparando os vários grupos de cachorros e adultos verifica-se um crescendo nos valores de pH desde os grupos mais jovens aos grupos de maior idade (Figura 34). Tais resultados vão de encontro ao descrito por Schmid-Wendtner & Korting (2007) para o Homem, em que referem um aumento do pH da pele com o avançar da idade. É possível que este aumento contribua também para uma capacidade tampão reduzida e consequentemente para uma maior sensibilidade da pele a irritantes e infecções bacterianas como sugerido por Rippke et al. (2002) para o Homem.

Figura 34: Valores de pH para os 4 grupos de idades analisados: cachorros mais novos (1 e 2 meses de idade), cachorros mais velhos (dos 3 aos 11 meses de idade), adultos mais novos (entre 1 e 3 anos) e adultos mais velhos (dos 4 aos 14 anos).



Foram feitos, até agora, poucos estudos no Homem relacionados com diferenças de pH de pele entre géneros, tendo sido os resultados contraditórios (Schmid-Wendtner & Korting, 2007). Em canídeos, as pesquisas anteriores efectuadas não identificaram associações significativas entre o género e o pH da pele (Matousek & Campbell, 2002). Também no presente estudo não se identificaram diferenças de pH em função do género estatisticamente significativas. No entanto, detectou-se, tanto nos adultos como nos cachorros, que os machos apresentavam de forma consistente um pH de pele mais elevado que as fêmeas, indo este resultado de encontro ao detectado por Ruedisueli et al. (1998). A análise regional do pH da pele revelou uma constante presença de um pH mais elevado nas zonas intertriginosas tanto nos adultos como nos cachorros, resultado este consistente com outros estudos realizados tanto em animais como no Homem, sendo pelos autores reconhecido que zonas com maior humidade apresentam um pH ligeiramente mais elevado. É sugerido por vários autores que áreas ocluídas não permitem uma evaporação da sudação apropriada, conduzindo a um aumento do pH, uma vez que a normal sudação é acídica, ficando a pele mais ácida à medida que ocorre evaporação (Matousek & Campbell, 2002).

Detectou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o pH da pele de animais com pele pigmentada e com ausência de pigmento tanto nos cachorros como nos adultos. Nos animais adultos com pele pigmentada, os valores médios de pH eram consideravelmente mais baixos que a média global dos controlos, no entanto, nos animais com pele não pigmentada, os valores médios de pH não variaram muito da média global. Já nos cachorros, as diferenças estatisticamente significativas entre o pH da pele de animais com pele pigmentada e com ausência de pigmento detectaram-se apenas na região interdigital ventral. Reed et al. (1995) num estudo que realizaram no Homem, demonstraram que o tipo de pigmentação da pele determinava diferenças na função barreira e na coesão do estrato córneo. Gunathilake et al. (2009), distinguiram também o pH em indivíduos mais e menos pigmentados e detectaram que os indivíduos com pele mais pigmentada apresentavam menor pH da pele, uma integridade do estrato córneo aumentada e um mais rápido restabelecimento da barreira que indivíduos menos pigmentados. Para além disso, os autores descobriram que as dendrites dos melanócitos dos indivíduos mais pigmentados eram mais ácidas que as dos indivíduos menos pigmentados, e que transferiam mais melanossomas para o estrato córneo, sugerindo que a secreção de melanossomas poderia contribuir para um pH mais ácido da pele pigmentada.

Foi observado um efeito de raça estatisticamente significativo tanto nos cachorros como nos adultos. Em ambos os grupos se verifica que a raça Golden Retriever é a que apresenta o valor mais elevado de pH quando comparado com a média global. Nos adultos surgem também o São Bernardo e o Pastor Alemão como as raças com pH de pele mais elevado. Seria conveniente, posterior inclusão de animais jovens de tais raças para confirmação da tendência. Também em ambos os grupos se verifica que as raças Yorkshire Terrier e Border Collie apresentam de forma consistente valores de pH de pele mais baixos que a média global. Surge contudo, no grupo dos adultos a raça Boxer, que apresenta também valores de pH mais baixos, estatisticamente significativos. No entanto, nos cachorros, apesar de também apresentarem valores de pH médio mais baixos que a média global, estes não têm valor estatístico, necessitando-se de uma maior amostra para confirmação destes resultados. Ruedisueli et al. (1998) também referiu um efeito de raça considerável, contudo, os valores de pH obtidos para as mesmas raças diferiram dos do presente estudo. Tais diferenças podem resultar das condições de realização das medições, bem como de factores inerentes aos próprios indivíduos.

O conhecimento dos valores de pH de pele inerentes a cada raça é vantajoso na medida em que permite um melhor ajuste do pH de produtos de uso dermatológico, possibilitando a sua utilização com o mínimo de dano para o manto ácido da pele uma vez que este manto ácido representa um papel na preservação da função barreira. Podem beneficiar do conhecimento do pH fisiológico da pele de cada raça animais que frequentemente são sujeitos a banhos e que podem manter o seu pH de pele através do uso de produtos de limpeza com um pH

ajustado, prevenindo dessa forma, o desenvolvimento de doenças de pele; pacientes com doenças de pele, como eczema atópico, dermatoses seborreicas, doenças bacterianas ou fúngicas e animais com pele com elevado risco para o desenvolvimento de reacções irritativas possivelmente seguidas de dermatite beneficiando de produtos emolientes a um pH ajustado ao seu fisiológico. Também a reversão do pH anómalo, possivelmente presente nas dermatoses inflamatórias pode não só melhorar a função de permeabilidade da barreira como também reduzir o excesso de descamação, diminuir a colonização de agentes patogénicos e restringir a inflamação tal como sugerido por Hachem et al (2010).

Canídeos Insuficientes Renais Crónicos (IRC)

O presente estudo indicou um pH de pele dos animais com IRC menor que o dos animais saudáveis (Figura 35 e 36), tendo estas diferenças sido consideradas estatisticamente significativas (Tabela 30 e 31).

Figura 35: Valores de pH dos diferentes grupos de animais estudados.

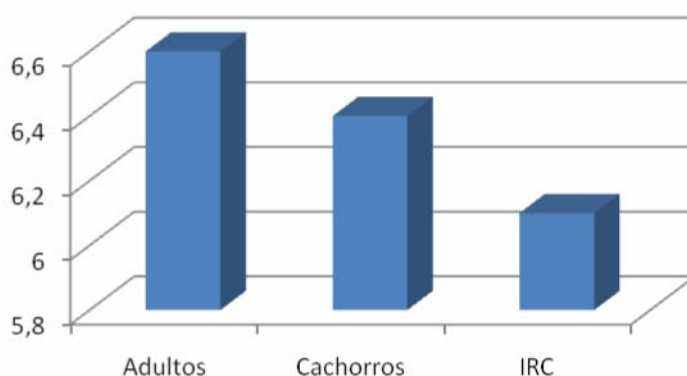


Figura 36: Valores de pH: adultos *versus* Insuficientes Renais.

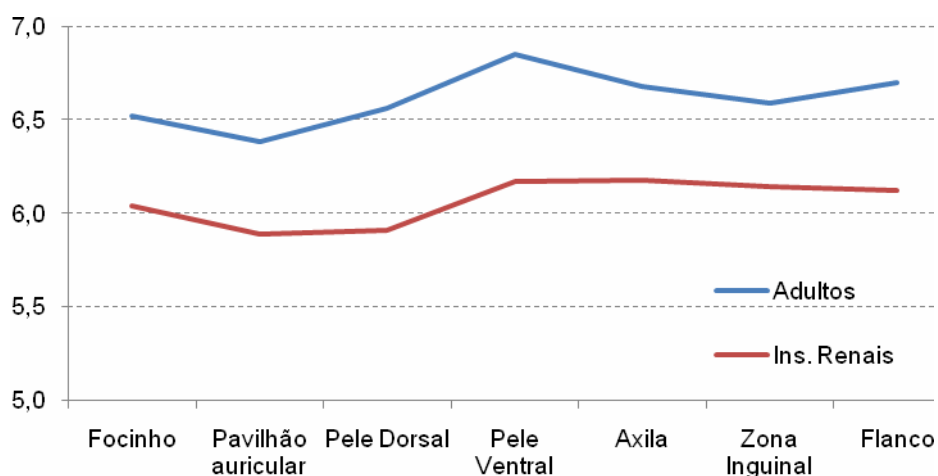


Tabela 35: Testes t de Student para amostras independentes, referentes à relação entre o pH de animais adultos e com insuficiência renal crónica.

Regiões anatómicas	t	GI	Sig.
Focinho	2,054	131	,042 *
Pavilhão auricular	2,419	134	,017 *
Interdigital Dorsal	3,622	135	,000 *
Interdigital Ventral	3,703	135	,000 *
Axila	2,709	135	,008 *
Zona Inguinal	2,437	135	,016 *
Flanco	2,616	131	,010 *

* $p \leq 0,05$ **Tabela 36:** Estatísticas descritivas referentes aos valores pH das várias regiões anatómicas dos adultos e canídeos com IRC.

	Tipo	N	Média	Desvio padrão
Focinho	Adultos	113	6,52	,993
	Ins. renais	20	6,04	,755
Pavilhão auricular	Adultos	115	6,38	,864
	Ins. renais	21	5,89	,856
Interdigital Dorsal	Adultos	115	6,56	,727
	Ins. renais	22	5,91	,981
Interdigital Ventral	Adultos	115	6,85	,769
	Ins. renais	22	6,17	,884
Axila	Adultos	115	6,68	,826
	Ins. renais	22	6,18	,670
Zona Inguinal	Adultos	115	6,59	,800
	Ins. renais	22	6,14	,801
Flanco	Adultos	113	6,70	,845
	Ins. renais	20	6,12	1,263

Estes resultados são contrários aos apresentados por Yosipovitch em ambos os estudos que realizou em pacientes IRC humanos (Yosipovitch et al., 1993; Yosipovitch et al., 2007). Uma das explicações possíveis para esta diminuição do pH da pele, parece ter a ver com a alteração da sudação destes pacientes e é sugerida por Yosipovitch et al. (1993). Estes autores referem que elevadas taxas de sudação, aumentam o pH do suor e que pode verificar-se uma diminuição do pH da pele de pacientes insuficientes renais crónicos porque estes pacientes, devido à atrofia das glândulas sebáceas e sudoríparas, secundárias à IRC, apresentam uma menor sudação, bem como menor secreção sebácea, com maior incidência de pele seca. Também no Homem, concentrações séricas muito elevadas de ureia deixam na evaporação sudorípara resíduos de ureia e outros produtos azotados, sendo este fenómeno denominado de "uremic frost" ou geada urémica. Estes produtos

cristalizam na pele (Kuo, Hung, Tsai, & Chen, 2010). Esta deposição, alterando a composição das secreções sudoríparas e sebáceas, poderá provocar uma alteração da deposição ácida na pele. Não está no entanto descrito este fenómeno para canídeos. Por outro lado, em insuficientes renais crónicos com acidose metabólica, a pele pode colaborar na tentativa de excreção ácida, no sentido da manutenção da homeostasia.

Posteriores pesquisas com uma maior amostra poderão determinar se o pH da pele de pacientes insuficientes renais crónicos poderá ter qualquer valor prognóstico tendo em conta estes factos. Teria sido uma mais-valia ter-se complementado a avaliação do pH da pele dos animais com IRC com a avaliação do seu estado de acidose metabólica para avaliar se o pH da pele acompanharia tal acidez sanguínea. Por impossibilidade económica tal não foi possível. Teria também sido importante incluir-se uma maior amostra de animais com insuficiência renal crónica, pertencentes às raças de animais saudáveis estudadas, com o intuito de se avaliarem diferenças mais consistentes no pH de pele dos animais com patologia quando comparados com os animais saudáveis.

BIBLIOGRAFIA

- Agache, P. (2004). Stratum corneum histophysiology. In P. Agache, P. Humbert, & M. Philipp (Ed.), *Measuring the Skin* (pp. 95-100). Heidelberg, Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Aly, R., Shirley, C., Cunico, B., & Maibach, H. I. (1978). Effect of prolonged occlusion on the microbial flora, pH, carbon dioxide and transepidermal water loss on human skin. *The Journal of Investigative Dermatology*, 71, 378-381.
- Ansari, S. A. (2009). Skin pH and skin flora. In A. O. Barel, M. Paye, & H. I. Maibach, *Handbook of Cosmetic Science and Technology* (3ª Edição ed., pp. 221-231). New York, USA: Informa Healthcare.
- Behne, M. J., Meyer, J. W., Hanson, K. M., Barry, N. P., Murata, S., Crumrine, D., Clegg, R. W., Gratton, E., Holleran, W. M., Elias, P. M., Mauro, T. M. (2002). NHE1 regulates the stratum corneum permeability barrier homeostasis. microenvironment acidification assessed with fluorescence lifetime imaging. *The Journal Of Biological Chemistry*, Vol. 277, No. 49, 47399-47406.
- Behne, M. J., Barry, N. P., Hanson, K. M., Aronchik, I., Clegg, R. W., Gratton, E., Feingold, K., Holleran, W. M., Elias, P. M., Mauro, T. M. (2003). Neonatal development of the stratum corneum pH gradient: localization and mechanisms leading to emergence of optimal barrier function. *The Journal of Investigative Dermatology*, 120, No. 6, 998-1006.
- Blank, I. H. (1939). Measurement of pH of the skin surface. I. Technique. *The Journal of Investigative Dermatology*, 2, 67-69.
- Blank, I. H. (1939). Measurement of pH of the skin surface. II. pH of the exposed surfaces of adults with no apparent skin lesions. *The Journal of Investigative Dermatology*, 2, 75-79.
- Chikakane, K., & Takahashi, H. (1995). Measurement of skin pH and its significance in cutaneous diseases. *Clinics in Dermatology*, 13, 299-306.
- Draize, J. H. (1942). The determination of the pH of the skin of man and common laboratory animals. *The Journal of Investigative Dermatology*, 5, 77-85.
- Eberlein-König, B., Schäfer, T., Huss-Marp, J., Darsow, U., Möhrenschrager, M., Herbert, O., Abeck, D., Krämer, U., Behrendt, H., Ring, J. (2000). Skin surface pH, stratum corneum hydration, trans-epidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children. *Acta Dermato-Venereologica*, 80, 188-191.
- Ehlers, C., Ivens, U. I., Moller, M. L., Senderovitz, T., & Serup, J. (2001). Comparison of two pH meters used for skin surface pH measurement: the pH meter 'pH900' from Courage & Khazaka versus the pH meter '1140' from Mettler Toledo. *Skin research and Technology*, 7, 84-89.
- Ehlers, C., Ivens, U. I., Moller, M. L., Senderovitz, T., & Serup, J. (2001). Females have lower skin surface pH than men. A study on the influence of gender, forearm site variation, right/left difference and time of day on the skin surface pH. *Skin Research and Technology*, 7, 90-94.
- Elias, P. M. (2005). Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *The Journal of Investigative Dermatology*, 125, 183-200.
- Fluhr, J. W., Kao, J., Jain, M., Ahn, S. K., Feingold, K. R., & Elias, P. M. (2001). Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity. *The Journal Of Investigative Dermatology*, 117, No. 1, 44-51.
- Fluhr, J. W., & Elias, P. M. (2002). Stratum corneum pH: formation and function of the 'acid mantle'. *Exogenous Dermatology*, 1, 163-175.
- Fluhr, J. W., Behne, M. J., Brown, B. E., Moskowitz, D. G., Selden, C., Mao-Qiang, M., Mauro, T. M., Elias, P. M., Feingold, K. R. (2004). Stratum corneum acidification in neonatal skin: secretory phospholipase A2 and the sodium/hydrogen antiporter-1 acidify neonatal rat stratum corneum. *The Journal of Investigative Dermatology*, 122, 320-329.
- Fluhr, J. W., Crumrine, D., Man, M.-Q., Moskowitz, D. G., Elias, P. M., & Feingold, K. R. (2005). Topical liver X receptor activators accelerate postnatal acidification of stratum corneum and improve function in the neonate. *Journal of Investigative Dermatology*, 125, 1206-1214.

- Fluhr, J. W., Man, M.-Q., Hachem, J.-P., Crumrine, D., Mauro, T. M., Elias, P. M., Feingold, K. R. (2009). Topical peroxisome proliferator activated receptor activators accelerate postnatal stratum corneum acidification. *Journal of Investigative Dermatology*, 129, 365-374.
- Foster, A. P., & Foil, C. S. (2007). *BSAVA Manual of small animal dermatology* (2nd ed.). Quedgeley, Gloucester, UK: BSAVA.
- Gfatter, R., Hackl, P., & Braun, F. (1997). Effects of soap and detergents on skin surface pH, stratum corneum hydration and fat content in infants. *Dermatology*, 195, 258-626.
- Gunathilake, R., Schurer, N. Y., Shoo, B. A., Celli, A., Hachem, J.-P., Crumrine, D., Sirimanna, G., Feingold, K. R., Mauro, T. M., Elias, P. M. (2009). pH-Regulated mechanisms account for pigment-type differences in epidermal barrier function. *Journal of Investigative Dermatology*, 129, 1719-1729.
- Hachem, J.-P., Crumrine, D., Fluhr, J., Brown, B. E., Feingold, K. R., & Elias, P. M. (2003). pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis, and stratum corneum integrity/cohesion. *The Journal of Investigative Dermatology*, 121, No. 2, 345-353.
- Hachem, J.-P., Man, M.-Q., Crumrine, D., Uchida, Y., Brown, B. E., Rogiers, V., Roseeuw, D., Feingold, K. R., Elias, P. M. (2005). Sustained serine proteases activity by prolonged increase in pH leads to degradation of lipid processing enzymes and profound alterations of barrier function and stratum corneum integrity. *The Journal of Investigative Dermatology*, 125:3, 510-520.
- Hachem, J.-P., Roelandt, T., Schürer, N., Pu, X., Fluhr, J., Giddelo, C., Man, M.-Q., Crumrine, D., Roseeuw, D., Feingold, K. R., Mauro, T., Elias, P. M. (2010). Acute acidification of stratum corneum membrane domains using polyhydroxyl acids improves lipid processing and inhibits degradation of corneodesmosomes. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(2), 500-510.
- Hanselman, B. A., Kruth, S. A., Rousseau, J., & Weese, J. S. (2009). Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. *Canadian Veterinary Journal*, 50, 954-958.
- Hanson, K. M., Behne, M. J., Barry, N. P., Mauro, T. M., Gratton, E., & Clegg, R. M. (2002). Two-photon fluorescence lifetime imaging of the skin stratum corneum pH gradient. *Biophysical Journal*, 83, 1682-1690.
- Hatano, Y., Man, M.-Q., Uchida, Y., Crumrine, D., Scharsschmidt, T. C., Kim, E. G., Mauro, T. M., Feingold, K. R., Elias, P. M., Holleran, W. M. (2009). Maintenance of an acidic stratum corneum prevents emergence of murine atopic dermatitis. *Journal of Investigative dermatology*, 129(7), 1824-1835.
- Houben, E., Hachem, J. P., & Rogiers, V. (2008). Epidermal ceramidase activity regulates epidermal desquamation via stratum corneum acidification. *Skin Pharmacology and Physiology*, 21, 111-118.
- Jolly, H. W., Hailey, C. w., & Netick, J. (1961). pH determinations of the skin - readings under normal and abnormal conditions. *The Journal of Investigative Dermatology*, 36, 305-308.
- Kawakami, T., Shibata, S., Murayama, N., Nagata, M., Nishifuji, K., Iwasaki, T., Fukata, T. (2010). Antimicrobial susceptibility and methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* Subsp. *coagulans* isolated from dogs with pyoderma in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, Advance Publication.
- Korting, H. C., Hübner, K., Greiner, K., Hamm, G., & Braun-Falco, O. (1990). Differences in the skin surface pH and bacterial microflora due to the long-term application of synthetic detergent preparations of pH 5.5 and pH 7.0. Results of a crossover trial in healthy volunteers. *Acta Dermato venereologica*, 70, 429-457.
- Korting, H. C., & Braun-Falco, O. (1996). The effect of detergents on skin pH and its consequences. *Clinics in Dermatology*, 14, 23-27.
- Krien, P. M., & Kermici, M. (2000). Evidence for the existence of a self-regulated enzymatic process within the human stratum corneum - an unexpected role for urocanic acid. *The Journal of Investigative Dermatology*, 115, No. 3, 414-420.
- Kuo, C.-C., Hung, J.-B., Tsai, C.-W., & Chen, Y.-M. (2010). Uremic frost. *Canadian Medical Association Journal*, Early release.

- Lambers, H., Pessens, S., Bloem, A., Pronk, H., & Finkel, P. (2006). Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science*, 28, No. 5, 359-370.
- Le Fur, I., Reinberg, A., Lopez, S., Morizot, F., Mechkouri, M., & Tschachler, E. (2001). Analysis of circadian and ultradian rhythms of skin surface properties of face and forearm of healthy women. *The Journal Of Investigative Dermatology*, 117 No. 3, 718-724.
- Lee, S. H., Jeonh, K. K., & Ahn, S. K. (2006). An update of the defensive barrier function of skin. *Yonsei Medical Journal*, 47, No. 3, 293-306.
- Matousek, J. L., & Campbell, K. L. (2002). A comparative review of cutaneous pH. *Veterinary Dermatology*, 13, 293-300.
- Matousek, J. L., Campbell, K. L., Kakoma, I., & Schaeffer, D. J. (2003). The effects of four acidifying sprays, vinegar, and water on canine cutaneous pH levels. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 39, 29-33.
- Matousek, J. L., Campbell, K. L., Kakoma, I., Solter, P. F., & Schaeffer, D. J. (2003). Evaluation of the effect of pH on in vitro growth of *Malassezia pachydermatis*. *The Canadian Journal of veterinary Research*, 67, 56-59.
- Mauro, T., Grayson, S., Gao, W. N., Man, M.-Q., Kriehuber, E., Behne, M., Feingold, K. R., Elias, P. M. (1998). Barrier recovery is impeded at neutral pH, independent of ionic effects: implications for extracellular lipid processing. *Archives of Dermatological Research*, 290, 215-222.
- Meyer, W., & Neurand, K. (1991). Comparison of skin pH in domesticated and laboratory mammals. *Archives of Dermatological Research*, 283, 16-18.
- Muller, G. H., Miller, W. H., & Griffin, C. E. (2001). Structure and function of the skin. In *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology* (6^a ed.). China: Saunders.
- Norström, M., Sunde, M., Tharalds, H., Mørk, T., Bergsjø, B., & Kruse, H. (2009). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* in the norwegian dog population. *Microbial Drug Resistance*, 15(1), 55-59.
- Oh, W.-S., & Oh, T.-H. (2009). Mapping of the dog skin based on biophysical measurements. *Veterinary Dermatology*, 1-6.
- Öhman, H., & Vahlquist, A. (1998). The pH gradient over the stratum corneum differs in X-linked recessive and autosomal dominant ichthyosis: a clue to the molecular origin of the "acid skin mantle"? *The Journal of Investigative Dermatology*, 111, No. 4, 674-677.
- Parra, J. L., Paye, M., & EEMCO Group, T. (2003). EEMCO Guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 16, 188-202.
- Plasencia, I., Norlén, L., & Bagatolli, L. A. (2007). Direct visualization of lipid domains in human skin stratum corneum's lipid membranes: effect of pH and temperature. *Biophysical Journal*, 93, 3142-3155.
- Rippke, F., Schreiner, V., & Schwanitz, H.-J. (2002). The acidic milieu of the horny layer. new findings on the physiology and pathophysiology of skin pH. *American Journal of Clinical Dermatology*, 3 (4), 261-272.
- Rippke, F., Schreiner, V., Doering, T., & Maibach, H. I. (2004). Stratum corneum pH in atopic dermatitis: impact on skin barrier function and colonization with *Staphylococcus aureus*. *American Journal of Clinical Dermatology*, 5 (4), 217-223.
- Ruedisuelii, F. L., Eastwood, N. J., Gunn, N. K., & Watson, T. G. (1998). The measurement of skin pH in normal dogs of different breeds. In K. W. Kwochka, T. Willemse, & C. von Tscharner (Ed.), *Advances in Veterinary Dermatology*. 3, pp. 521-523. Oxford: Butterworth-Heinemann.
- Runeman, B., Faergemann, J., & Larkö, O. (2000). Experimental *Candida albicans* lesions in healthy humans: dependence on skin pH. *Acta Dermato Venereologica*, 80, 421-424.
- Schirren, C. G. (1955). Does the glass electrode determine the same pH-values on the skin surface as the quinhydrone electrode? *The Journal Of Investigative Dermatology*, 24 (5), 455-458.
- Schmid, M. -H., & Korting, H. C. (1995). The concept of the acid mantle of the skin: its relevance for the choice of skin cleansers. *Dermatology*, 191, 276-280.
- Schmid-Wendtner, M. -H., & Korting, H. C. (2006). The pH of the skin and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacology and Physiology*, 19, 296-302.

- Schmid-Wendtner, M., & Korting, H. (2007). *pH and Skin Care*. Munich, Germany: ABW Wissenschaftsverlag.
- Sparavigna, A., Setaro, M., & Gualandri, V. (1999). Cutaneous pH in children affected by atopic dermatitis and in healthy children: a multicenter study. *Skin Research and Technology*, 5, 221-227.
- Vidal, S., Mercier, L., Soulard, Y., & Biourge, V. (2009). Skin pH in healthy dogs from 21 breeds. *23rd Annual Congress of the ESVD-ECDV on Veterinary Dermatology* (p. 222). Bled: ECDV.
- Yosipovitch, G., Tur, E., Cohen, O., & Rusecki, Y. (1993). Skin surface pH in intertriginous areas in NIDDM patients. Possible correlation to candidal intertrigo [abstract] [versão electrónica]. *Diabetes Care*, 16 (4), 560-563. Acedido em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>
- Yosipovitch, G., Tur, E., Morduchowicz, G., & Boner, G. (1993). Skin surface pH, moisture, and pruritus in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 8, 1129-1132.
- Yosipovitch, G., Xiong, G. L., Haus, E., Sackett-Lundeen, L., Ashkenazi, I., & Maibach, H. I. (1998). Time-dependent variations of the skin barrier function in humans: transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and skin temperature. *The Journal of Investigative Dermatology*, 110, No. 1, 20-23.
- Yosipovitch, G., & Hu, J. (2003). The importance of skin pH. *Skin & Aging*, 11.
- Yosipovitch, G., Duque, M. I., Patel, T. S., Ishiuchi, Y., Guzman-Sanchez, D. A., Dawn, A. G., Freedman, M. I., Chan, Y. H., Crumrine, D., Elias, P. M. (2007). Skin barrier structure and function and their relationship to pruritus in end-stage renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22, 3268-3272.

PARTE III

ANEXOS

Anexo I – Resumo da comunicação oral apresentada no 19º Congresso Nacional da APMVEAC 2010

pH da pele em cães jovens e adultos saudáveis: resultados preliminares de 143 animais

D.R. Ferreira; A.M. Martins; J.H. Correia

A natureza ácida da pele foi reconhecida há mais de um século. O pH ácido da superfície cutânea dos mamíferos desempenha várias funções de grande importância na manutenção da barreira epidérmica. Tem um papel fundamental na defesa antimicrobiana da epiderme, é indispensável para a homeostase da permeabilidade da barreira epidérmica e mantém a integridade/coesão do estrato córneo.

No Homem, sabe-se que elevações no pH do estrato córneo afectam negativamente as funções cutâneas podendo resultar num elevado número de situações clínicas. Muitas das doenças dermatológicas em seres humanos, incluindo dermatite atópica e dermatite seborreica, estão associadas a um aumento do pH do estrato córneo. Este aumento do pH afecta por consequência a manutenção da barreira epidérmica e a integridade/coesão do estrato córneo. Ligeiras alterações no pH da pele podem desencadear manifestações clínicas mais graves ou prolongadas ou até mesmo dermatoses ocupacionais resistentes. O conhecimento do pH de pele é importante na medida em que nos permitirá realizar escolhas a nível de agentes acidificantes tópicos mais bem fundamentadas, possibilitando um aumento da eficácia terapêutica, bem como um ajuste mais específico das terapêuticas tópicas perante a diferenciação do pH cutâneo de diferentes raças.

Como objectivo, pretendemos conhecer os valores de pH da pele das raças de canídeos mais comuns em Portugal.

Foram seleccionados 85 cães saudáveis adultos (> 1 ano de idade), correspondendo a 48 fêmeas e 38 machos, de 15 raças; 58 cães jovens (< 11 meses), sendo, 28 fêmeas e 30 machos e pertencendo a 12 raças distintas.

O pH da pele foi medido usando um medidor de pH de pele (PH 900; Courage & Khazaka, Cologne, Alemanha), tendo sido medidas 7 áreas diferentes do corpo (focinho, face interna do pavilhão auricular, região interdigital dorsal e ventral, axila, região inguinal e região do flanco).

Em conclusão, baseando-nos na teoria de que o pH ácido da pele diminui a capacidade de sobrevivência de agentes microbianos, produtos tópicos acidificantes, embora não antimicrobianos, podem ter um papel importante na manutenção de um ambiente hostil para microrganismos infecciosos, tornando-se uma mais-valia no tratamento de infecções cutâneas. Em consonância com estudos anteriores foi-nos possível observar diferenças significativas entre raças, reforçando a importância do conhecimento do pH de pele aquando da realização de terapêuticas adjuvantes acidificantes.

Anexo II - Resumo do poster e comunicação oral apresentada no 24º Congresso Anual ECVD-ESVD, Florença, Itália, 2010

Prevalence of conjunctivitis in dogs with atopic dermatitis (N=64): a dermatology and ophthalmology service perspective

A.M. Martins; E. Delgado; M.C. Peleteiro, D. Ferreira; D. Nóbrega, J.H.D. Correia

Purpose: Conjunctivitis in canine atopic dermatitis (cAD) may be underreported. Conjunctivitis prevalence among human allergic patients seems highly dependent on the doctors' speciality (for example allergists or dermatologists versus ophthalmologists). Our Purpose: to compare conjunctivitis assessment in cAD between dermatology and ophthalmology services; to see if a correlation exists between the severity of cAD and the intensity of ocular signs.

Methods: cAD diagnosis (n=64) was made according to standard criteria (compatible history and clinical criteria; exclusion of other pruritic skin diseases; positive allergy testing) and CADESI-03 assessed. Complete ophthalmic exam was performed: conjunctival hyperaemia, quemosi, epifora, ocular discharge, ocular pruritus and corneal involvement graded 0 to 3 according to severity, the sum. Results are presented as median±SEM and Pearson coefficient of correlation (r) was used, with 95% confidence interval.

Results: Significant difference ($p<0,05$) was found between Dermatologist and Ophthalmologist service-reported prevalence of conjunctivitis symptoms (respectively 16% versus 60%). Mean value for score of intensity of ophthalmic allergy symptoms was 5.4 ± 0.37 . Mean CADESI-03 was 96.4 ± 9.74 with 17.6 ± 2.22 values just for head/face region. The severity of ocular signs was not significantly correlated with CADESI-03 ($r=0.069$) or face/head score ($r=0.158$).

Anexo III - Poster apresentado no 24º Congresso Anual ECVD-ESVD, Florença, Itália, 2010

PREVALENCE OF CONJUNCTIVITIS IN ATOPIC DOGS (N=64): A DERMATOLOGY AND OPHTHALMOLOGY SERVICE PERSPECTIVE





A.M. Martins¹, E. Delgado, M.C. Peleteiro¹, D. Ferreira², D. Nóbrega², JH. Duarte Correia¹

(1) CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, Technical University of Lisbon, Lisbon, PORTUGAL
(2) Teaching Hospital, FMV-UTL, Lisbon, PORTUGAL
almartins@fmv.utl.pt



Purpose:

Conjunctivitis in canine atopic dermatitis (CAD) may be underreported. According to some human ophthalmologists the prevalence of ocular allergy clearly is underappreciated and has been under diagnosed and undertreated. Articles titles "Allergic conjunctivitis: the forgotten disease" or "Prevalence of allergic conjunctivitis: a missed opportunity", published by some of the most preeminent researchers in human ophthalmology, seem to say it all. Conjunctivitis prevalence among human allergic patients seems highly dependent on the doctors' speciality (for example allergists or dermatologists *versus* ophthalmologists). Our purpose is to compare conjunctivitis assessment in CAD between dermatology and ophthalmology services. Furthermore, we want to see if a correlation exists between the severity of CAD and the intensity of ocular signs.



Methods:

CAD diagnosis (n=64) was made according to standard criteria (compatible history and clinical criteria strongly associated with the disease; exclusion of other pruritic skin diseases; positive allergy testing) and CADESI-03 assessed. For all of these animals evaluation of the presence of conjunctivitis was done separately by the dermatology and ophthalmology service. Investigators were blinded to the others evaluation. Furthermore complete ophthalmic exam was performed: conjunctival hyperaemia, quemosis, epifora, ocular discharge and corneal involvement were graded 0 to 3 according to severity. Ocular pruritus manifested as ocular squinting, blepharospasm, attempts to scratch or rub their eyes or periocular alopecia as a result of self-inflicted trauma was evaluated by owners and graded 0 to 3. The final clinical score for the severity of ocular signs resulted from the sum of individual scores, varying from 0 to 18. Results are presented as mean \pm SEM. For statistical study Pearson coefficient of correlation (r) was used, with 95% confidence interval.

Results:

Very significant difference ($p < 0,05$) was found between Dermatologist and Ophthalmologist service-reported prevalence of conjunctivitis symptoms (16% versus 60%). Mean CADESI-03 classification was 96.4 ± 9.74 with 17.6 ± 2.22 values just for head/face region. Regarding the final score of intensity of ocular allergy symptoms, the mean value was 5.4 ± 0.37 . The severity of ocular signs was not significantly correlated with CADESI-03 ($r = 0.069$) nor with face or head score ($r = 0.158$).

Conclusions:


Prevalence of ocular symptoms in CAD is probably underestimated. Perhaps non-dermatologic signs such as allergic conjunctivitis and blepharitis are sometimes missed or underreported as patients are seen by general physicians or dermatologists and not by ophthalmologists. Also, attention can also be deviated by the more severe skin symptoms and ocular pruritus is difficult to assess and discriminate from face/ear pruritus. Lastly, the majority of cAD patients are medicated with systemic anti-inflammatory (corticosteroid and cyclosporine) therapeutics which will also control allergic ocular signs. Conjunctivitis is a relatively common condition in cAD when evaluated by an ophthalmologist. We could not find any association between severe form of dermatitis and conjunctivitis. It is possible that certain areas of the body are 'pre-programmed' to develop inflammation upon allergen challenge once sensitization has occurred. This may be individually tailored to some extent, with some patients developing more important skin or eye signs. We believe that the existence of standardized criteria available to general veterinary physicians and dermatologists would allow them to correctly and easily diagnose allergic conjunctivitis, especially in those cases that do not need an ophthalmological referral.

Support: FCT, CIISA (Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal)

FCT Fundação para a Ciência e a Tecnologia
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR


ESVD-ECVD Florence September 2010

Anexo IV – Poster apresentado no VI Congresso Hospital Veterinário Montenegro 2010



**RUPTURA DE VESÍCULA BILIAR
EM CANÍDEO**
uma urgência rara

Ferreira, D.; Leitão, N.; Almeida, C.; Pontes, J.; Bom, R.; Leal, R.



1. Introdução

A ruptura de vesícula biliar associada a colelitíase raramente ocorre no cão, não sendo clara a sua fisiopatologia. A formação de cálculos biliares, geralmente secundária a colestase e infecção, é acompanhada por alterações inflamatórias, aumento da produção de muco e fibrose da parede da vesícula biliar. A sintomatologia associada à ruptura de vesícula biliar é de instalação tardia, comportando esta condição um prognóstico reservado.^{1,2,3}

2. Caso Clínico

História Pregressa

- Cadela Siberian Husky, ovariectomizada, de 14 anos;
- História de parésia dos posteriores, anorexia e vômito alimentar desde há 4 dias;
- Prostração severa e aguda desde há 4 horas.

Exame Clínico

- Animal em decúbito lateral;
- Choque hipovolémico severo (mucosas pálidas e secas, TRC aumentado);
- Temperatura de 39.1°C;
- Palpação abdominal: dolorosa, sinal de Murphy;
- Taquipneia e taquicárdia à auscultação;
- Pulso femoral bilateral fraco.

Estabilização de Urgência

- Colóides: 10 ml/kg em bolus durante 10-20 minutos;
- Cristalóides: 60-90ml/kg com reajustes cada 15 minutos;
- Analgesia: Morfina a 0,2 mg/kg;

→ Posteriormente, a fim de uma melhor estabilização clínica, o animal foi hospitalizado:

- Continuação de Fluidoterapia em taxa variável (20ml/kg com reajustes em função dos parâmetros vitais do animal);
- Antibioterapia: Metronidazol 10mg/kg, Cefoxitina 40mg/kg;
- Analgesia: dada a fraca resposta do animal após incremento da dose de morfina, foi instaurado o protocolo MLK (Morfina 0,24mg/kg/h, Lidocaina 0,3mg/kg/h, Ketamina 0,6mg/kg/h).

Diagnósticos Diferenciais

- Pancreatite aguda
- Úlcera perfurante gástrica/intestinal
- Ruptura de bexiga
- Corpo estranho intestinal penetrante
- Ruptura de vesícula biliar

Exames Complementares

- **Hemograma:** Leucopenia com linfopenia, trombocitopenia ligeiras.
- **Perfil Bioquímico:** Aumento dos valores séricos de ureia [281 mg/dl (0-54)], creatinina [3,35 mg/dl (0,5-1,4)], fosfatase alcalina [1620 U/L (47-254)] e bilirrubina [2,74 mg/dl (0,1-0,6)].
- **Radiografia torácica:** Sem alterações evidentes.
- **Radiografia abdominal latero-lateral direita.** (Figura 1): Perda de detalhe abdominal generalizado, moderada dilatação gástrica.




Figura 1: Radiografia Abdominal evidenciando perda de detalhe abdominal

• Ecografia abdominal (Quick Eco) (Figura 2):

líquido hipocogénico livre em todo o abdómen, peritónio e mesentério reactivos (aumento da ecogenicidade de ambos), não visualização da vesícula biliar, fígado normodimensionado, mas com diminuição difusa da ecogenicidade, ao nível do hilo do fígado aumento severo da ecogenicidade peri-portal.




Figura 2: Ecografia Abdominal

• Abdominocentese e análise do líquido de derrame (Figura 3):

cor amarelo vivo, densidade de 1.020, compatível com transudado modificado. Doseamento de bilirrubina de 5,38 mg/dl.




Figura 3: Líquido de derrame

Diagnóstico

Tendo em conta os achados ecográficos e o valor aumentado da bilirrubina no líquido de derrame face aos valores séricos desta, a ruptura de vesícula biliar constituiu o principal diagnóstico tendo sido recomendada cirurgia.

Laparotomia exploratória

- Após estabilização em 12 horas foi realizada a laparotomia exploratória;
- A anestesia foi induzida com Propofol e mantida com Sevoflurano;
- A celiotomia foi realizada pela linha média para uma melhor exposição da região abdominal cranial;




Figura 4: Vesícula biliar necrosada

- Os sinais de peritonite química biliar eram exuberantes com reacção intensa da serosa intestinal, omento e restantes órgãos da cavidade abdominal;
- Foi observada ruptura e necrose extensa da parede da vesícula biliar com presença de um cálculo de 15 mm de diâmetro (Figuras 4 e 5);
- Durante a realização da colecistectomia o animal desenvolveu fibrilhação ventricular não responsiva à medicação e evolutiva para paragem cardio-respiratória, a qual foi irreversível;




Figura 5: Cálculo biliar retirado da vesícula

- O cálculo biliar (Figura 6) foi enviado para análise, a qual revelou a presença maioritária de colesterol.




Figura 6: Cálculo biliar de colesterol

3. Discussão

A ruptura da vesícula biliar é secundária a múltiplas causas decorrentes neste órgão. Devido a uma saturação da biliar com colesterol, o esvaziamento biliar é retardado, dando origem a estase e à consequente formação de cálculos. Em resposta a esta estase, a mucosa da vesícula biliar secreta uma quantidade excessiva de mucina, a qual pode causar uma obstrução do ducto cístico e posterior ruptura da vesícula biliar. A hipercolesterolemia pode ocorrer secundariamente a diversas doenças tais como hipotireoidismo, diabetes mellitus, hiperadrenocorticismos, obesidade, pancreatite ou insuficiência hepática.^{2,3}

O cálculo biliar posteriormente identificado, não foi detectado à radiografia ou mesmo durante a ecografia abdominal. Tal facto pode ser atribuído a vários motivos, como à ausência de mineralização do cálculo e pobre contraste das estruturas adjacentes ou devido à presença de gás intestinal na ecografia.¹

O diagnóstico da ruptura biliar é baseado principalmente na abdominocentese, que indica a presença de transudado modificado cuja concentração de bilirrubina é superior à sanguínea. O tratamento de eleição para a colelitíase é cirúrgico, sendo que nos casos de lesão severa da vesícula biliar opta-se por uma colecistectomia.^{1,2} Entre os factores que influenciam o prognóstico desta patologia são determinantes a idade, o estado clínico pré-cirúrgico e o tempo decorrente até à cirurgia. No caso em estudo, a idade avançada, o estado de choque (ainda que revertido) e o tempo necessário à estabilização foram desfavoráveis ao sucesso terapêutico.

4. Conclusão

A colelitíase é de muito baixa incidência nos cães, quando comparada com os humanos. Tal facto pode ser explicado pela baixa concentração de colesterol e elevada quantidade de componentes solubilizadores de colesterol na biliar canina quando comparada com a biliar humana. Também a presença de factores antinucleares que diminuem a precipitação de carbonato de cálcio na biliar canina, e a absorção do cálcio biliar pela parede da vesícula biliar previnem a formação de cálculos calcificados. Devido ao elevado conteúdo em ácido taurocólico da biliar canina, a peritonite biliar em cães é considerada de pior prognóstico que nos humanos. Com efeito, a ruptura de vesícula biliar nos cães comporta um prognóstico muito reservado, com a taxa de mortalidade a atingir os 90 a 100 por cento, sendo por isso de maior importância o rápido diagnóstico.¹

Bibliografia: ¹Bromel C., et al (1998) Gallbladder perforation in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 39, 541-544 (USA) 1998. ²Ward, R. (2006) Obstructive cholelithiasis and cholecystitis in a Keeshond, *The Canadian Veterinary Journal*, 174, 520-521. ³Ward, R. (2006) Obstructive cholelithiasis and cholecystitis in a Keeshond, *The Canadian Veterinary Journal*, 2006, pp. 521.

Agradecimentos: ao Laboratório Grupo Joaquim Chaves

Anexo V – Folha elaborada para registo de cateteres incluídos no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais internados

**ESTUDO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA DE
CATETERES ENDOVENOSOS EM ANIMAIS
INTERNADOS**

REGISTO DO CATETER

Nome do Dono _____
 Contacto _____
 Paciente _____ Espécie _____ Raça _____ Idade _____
 Diagnóstico _____

Data de Colocação do Cateter _____

Cateter colocado por: _____

Data de Remoção do Cateter _____

Cateter removido por: _____

Alterações observadas no local cateterizado

Obrigada pela Colaboração!

Anexo VI – Pedido de colaboração e procedimentos de colocação de cateteres para inclusão no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais internados.

**ESTUDO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA DE CATETERES
ENDOVENOSOS EM ANIMAIS INTERNADOS**

Nota: Apenas aplicável a animais que permanecerão com o cateter por mais de 6 horas

1 Tricotomia de 180° do membro em que irá colocar o cateter

2 Passar o local de punção com compressa embebida em soro salino e clorexidina a 4%

3 Remover o excesso de clorexidina com soro e deixar secar 1 minuto

4 Colocar o cateter e proceder ao isolamento habitual com adesivo e vet-rap

OS CATETERES DEVERÃO SER RETIRADOS APENAS PELOS INVESTIGADORES E DE FORMA ESTÉRIL!
 POR FAVOR PREENCHA O FORMULÁRIO DO REGISTO DO CATETER

Obrigada pela Colaboração!!!


Anexo VII – Aviso de cateter em estudo a colocar nas jaulas dos animais internados participantes no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais internados.

CATETER EM ESTUDO

- Desinfectar os pontos de entrada com álcool antes de qualquer administração
- Vigiar a zona de cateter e registar quaisquer alterações locais

O cateter deverá ser retirado apenas pelos investigadores! Por favor contacte-os.

Obrigada pela Colaboração!!!!



Anexo VII – Folha de laboratório utilizada no Estudo de contaminação bacteriana de cateteres em animais internados.

**ESTUDO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA DE CATETERES
ENDOVENOSOS EM ANIMAIS INTERNADOS**

Cateter n.º: _____ Data de entrada em Laboratório: _____

Nome do Paciente: _____ Espécie: _____ Raça: _____

Idade: _____ Género: _____

Diagnóstico: _____

Nome do Dono: _____

Contacto: _____

Data de Colocação do Cateter: _____ Cateter colocado por: _____

Data de Remoção do Cateter: _____ Cateter removido por: _____

Alterações observadas no local cateterizado: _____

Laboratório:

Meios líquidos	Meios sólidos	N.º	Tipo de Colónia	Teste de gram	Resultado do Teste de Catalase (Cocos +)	Resultado do Teste de Oxidase (Bacilos -)	Tipo de API	Identificação Bioquímica
Bhib	AS							
	MC							
Schaedler	Schaedler						API 20A	

API's Aeróbios

- Catalase +: API Staph (ampola Staph Medium)
- Catalase -: API Strep (soro + GP Medium - ampola vermelha)
- Oxidase +: API Zone (ampola Aux Medium)
- Oxidase -: API 20E (soro)

API's Anaeróbios: API 20A

Resultados TSA: _____